

# THÈSE

*Présentée devant :*

L'ECOLE NATIONALE SUPÉRIEURE AGRONOMIQUE DE RENNES

*POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'ENSAR*

Mention : Biologie et Agronomie

*par*

LUC VILLAIN

**CARACTÉRISATION ET BIOÉCOLOGIE  
DU COMPLEXE PARASITAIRE  
DU GENRE *PRATYLENCHUS* (NEMATA : PRATYLENCHIDAE)  
PRÉSENT SUR CAFÉIERS (*COFFEA* SPP.) AU GUATEMALA**

Préparée  
AU LABORATOIRE PHYTROP (CIRAD-AMIS) ET  
A L'ASSOCIATION NATIONALE DU CAFÉ DU GUATEMALA (ANACAFE)

Soutenue le 5 mai 2000 devant le jury composé de :

M. Larry DUNCAN, Professeur, University of Florida, USA .....	Rapporteur
M. Pierre BAUJARD, Chargé de recherches, IRD .....	Rapporteur
Mme Anne LE RALEC, Maître de Conférence, ENSAR .....	Examinatrice
M. Didier MUGNIERY, Directeur de recherches, INRA .....	Examinateur
M. Dominique BERRY, Chef Programme Café, CIRAD-CP .....	Examinateur
M. Jean-Louis SARAHA, Directeur de recherches, CIRAD-AMIS .....	Examinateur
M. Jean-Sébastien PIERRE, Professeur, Université de Rennes I .....	Directeur de Thèse

## Avant-propos

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été conduits en partie au Guatemala dans les structures d'ANACAFE et sur différentes plantations privées. Ces travaux de nématologie ont été développés dans le cadre de l'accord régional de coopération entre le CIRAD et l'IICA/PROMECAFE (Programa Regional de Cooperación para la Modernización de la Caficultura en America Central). En France, les travaux ont été réalisés à l'unité de Nématologie du laboratoire PHYTROP du CIRAD-AMIS et à l'unité de Nématologie de l'IRD au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris.

Mes remerciements vont en premier lieu à Monsieur Jean-Louis SARAH, sans qui cette thèse n'aurait pas vu le jour. Je le remercie de m'avoir accueilli à diverses reprises dans le laboratoire Phytrop et d'avoir bien voulu suivre et guider mes travaux depuis mes premières expériences nématologiques. Je lui suis également très reconnaissant d'avoir su se rendre si souvent disponible malgré la multiplicité de ses activités. Je le remercie enfin de ne pas avoir perdu patience dans cette aventure de longue haleine et de m'avoir soutenu jusqu'à la concrétisation finale de cette thèse.

Je remercie vivement Monsieur Pierre BAUJARD pour m'avoir reçu dans son laboratoire au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris et pour m'avoir initié à la systématique du genre *Pratylenchus*. Je lui suis très reconnaissant de m'avoir fait partager ce monde fabuleux de la microscopie électronique qui m'a permis de découvrir ces chers *Pratylenchus* dans leur plus grande intimité. Je le remercie donc pour avoir rendu possible cette première approche taxinomique des populations de l'étude et pour ses conseils très précieux sur la biologie des Pratylenchidae. C'est donc pour moi un grand plaisir de le voir participer dans mon jury de thèse en qualité de rapporteur.

Je tiens à manifester toute ma gratitude à Monsieur le Directeur de l'ENSAR Pierre THIVEND pour m'avoir permis de réaliser cette thèse au sein de cette Ecole ainsi que ma profonde reconnaissance à la Direction Scientifique de l'ENSAR : Monsieur Jacques MALLARD et Madame Marie-France GAILLARD pour leur disponibilité et leur extrême gentillesse.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur Denis DESPREAUX, en tant que Directeur Scientifique puis Directeur du CIRAD-CP pour m'avoir permis de finaliser cette thèse malgré les contraintes et engagements de collaboration avec nos partenaires.

Je suis tout particulièrement reconnaissant aux deux chefs du Programme Café du CIRAD, Messieurs Dominique BERRY et Daniel DURIS qui m'ont soutenu tout au long de cette entreprise et m'ont donné les moyens de mener à bien ces études. Je remercie de plus Monsieur Dominique BERRY pour participer à ce jury de thèse en apportant sa grande expérience sur la caféiculture et la protection intégrée des cultures.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et amitié à Monsieur Bernard DECAZY grâce à qui tout a commencé et à qui je dois d'être au CIRAD. Je le remercie de m'avoir si chaleureusement accueilli au Guatemala et de m'avoir patiemment conseillé lors de mes premières activités de jeune chercheur coopérant, profane en milieu caféicole. Je lui dois également de m'avoir orienté avec J.L. SARAH vers la réalisation de ce travail de thèse.

Je remercie Monsieur Xavier MOURICHON, chef du Programme de Protection des Cultures, pour avoir accepté de me recevoir au sein du Département CIRAD-AMIS.

Je remercie vivement Monsieur Jean-Sébastien PIERRE, en tant que Directeur de la Chaire de Zoologie Appliquée de l'ENSAR puis comme Professeur à l'Université de Rennes I, pour avoir bien voulu

diriger cette thèse. Je lui suis de plus très reconnaissant pour ses précieux conseils dans l'approche mathématique des phénomènes biologiques étudiés dans ce travail.

J'adresse toute ma gratitude à Monsieur Michel LE NORMAND pour avoir accepté de diriger cette thèse à ses débuts.

Je tiens à remercier Monsieur Larry DUNCAN, Professeur à l'Université de Floride, pour l'honneur qu'il me fait d'accepter de participer à mon jury de thèse en qualité de rapporteur, nous faisant ainsi bénéficier de sa grande expérience sur la nématologie de cultures pérennes en milieu subtropical. Je le remercie également pour les informations échangées sur les populations de *Pratylenchus* spp. d'Amérique Centrale.

Je remercie Monsieur Didier MUGNIERY qui a bien voulu me recevoir à plusieurs reprises au Laboratoire de Nématologie de la station INRA du Rheu pour discuter à bâtons rompus sur la biologie des *Pratylenchus*. Je le remercie également de bien avoir voulu participer à ce jury de thèse.

Je remercie Madame Anne LE RALEC, pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse en apportant une vision autre que celle de la nématologie.

Je remercie toute l'équipe du laboratoire Phytrop pour leur aide et leur soutien moral dans les moments les plus difficiles : Marc BOISSEAU, Valérie MOLINIER, Bernard MARTINY, Annie RENOVELL et surtout Luc PIGNOLET pour sa participation aux manipulations de laboratoire.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Madame Nicole MICHAUD-FERRIERE pour m'avoir reçu dans son laboratoire, pour sa disponibilité et ses conseils précieux dans l'interprétation des coupes histologiques. Mes remerciements vont également à Madame Dolores TRIAIRE pour m'avoir initié aux techniques histologiques et avoir accepté de réaliser un certain nombre de coupes.

J'adresse toute ma gratitude à Monsieur Michel LUC pour ses quelques conseils donnés lors de mon passage au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris.

J'adresse mes plus sincères remerciements à mon collègue et ami Christian CILAS pour ses nombreux conseils en statistiques.

J'adresse mes plus vifs remerciements et toute mon amitié à toute l'équipe du programme Café d'Amérique Centrale avec qui il a pu être possible de partager nos motivations scientifiques, notre intérêt pour le monde du café et notre passion pour l'Amérique Centrale : Jacques AVELINO, Benoît BERTRAND, Marc BERTHOULY, Bernard DUFOUR, Magali DUFOUR, Hervé ETIENNE, Bertrand SALLEE et Philippe VAAST.

Mes remerciements vont également aux collègues Montpelliérains du Programme Café et de l'Information Scientifique et Technique pour leur appui et soutien.

J'adresse également tous mes remerciements à mes amis et collègues, Franck RIVANO et Bertrand MULLER pour leur soutien au Guatemala.

Je remercie vivement et adresse toute mon amitié à Emmanuelle LAMADE pour sa générosité et son appui inconditionnel lors de mes séjours en France.

Quiero transmitir mis profundos agradecimientos al Dr. Francisco ANZUETO : como director del Departamento de Investigaciones de ANACAFE quien siempre apoyó mis trabajos desde el inicio, como



compañero de trabajo con quien pude compartir aventuras nematológicas y también como amigo quien siempre me ha demostrado su amistad y confianza.

Quiero agradecer al Lic. Rogrigo CHACON, Gerente de ANACAFE, por tener fe en nuestros trabajos, por su interés y apoyo a la investigación y a la cooperación con el CIRAD a través de PROMECAFE.

Mis agradecimientos van también hacia todo el departamento de Investigación de ANACAFE con un pensamiento muy especial para el Ing. Amauri MOLINA con quien compartí muchas caminadas y tareas en los cafetales así como actividades en el laboratorio. Mis agradecimientos también para el Ing. Pablo FIGUEROA, el Ing. Denis LICARDIE, el Ing. Sergio SIERRA y Don Victor PEREZ por su participación en las actividades de Nematología. Gracias también a los compañeros y amigos : Dr. Armando GARCIA, Ing. Umberto JIMENEZ, Ing. Edgar LOPEZ, Ing. Oscar CAMPOS por su apoyo.

Mis agradecimientos van también hacia todo el departamento técnico de ANACAFE.

Gracias a todo el personal de ANACAFE de la Oficina Central, de las Regionales y de la Finca Buena Vista por apoyarme en mis actividades y por adoptarme como miembro de su gran familia.

Quiero agradecer a la Finca San Jeronimo Miramar con un reconocimiento muy especial al Ing. Arnoldo VILLAGRAN quien siempre nos ha otorgado un precioso apoyo para llevar a cabo los experimentos desarrollados en esta finca.

Un agradecimiento muy especial al Ing. Jorge SAMAYOA por permitir las actividades de investigaciones en la Finca Moca y al Ing. Edgar LOPEZ así como al personal de campo quien nos ha dado el apoyo necesario en los numerosos muestreos realizados en esta finca.

Quiero agradecer a los successivos Directores de PROMECAFE por hacer posible la realización de este trabajo científico en Guatemala y en CentroAmérica. Ing. Juan Jose OSORTO, Ing. José Roberto HERNANDEZ y Lic. Guillermo CANET, reciban mis profundos y sinceros reconocimientos.

Quiero agradecer también a la Oficina Regional del IICA en Guatemala la cual ha venido apoyando esta actividad desde su inicio. Que todo el personal del IICA reciba mis sinceros agradecimientos y mensajes de amistad.

Je tiens à remercier mes parents et mon frère pour leur aide lors de mes séjours en France et leurs encouragements tout au long de ce travail de thèse.

Je ne saurais terminer sans adresser ma plus profonde reconnaissance à Karen et Adriana pour leur appui et pour avoir accepté que je consacre autant de temps à cette thèse et avoir supporté mes trop longues absences.



## Sommaire

<b>Chapitre 1: INTRODUCTION</b>	<b>24</b>
<b>1. L'HÔTE <i>COFFEA</i> SPP. ET SA CULTURE</b>	<b>27</b>
1.1. Origines et diffusion de <i>Coffea arabica</i>	28
1.2. Origines et diffusion de <i>C. canephora</i>	28
1.3. Organisation et diversité génétique chez le genre <i>Coffea</i>	29
1.4. Architecture des caféiers	29
<i>Architecture des organes aériens</i>	29
<i>Architecture du système racinaire</i>	31
<i>Anatomie des racines</i>	33
1.5. Ecophysiologie de <i>C. arabica</i>	33
<i>Phénologie des organes aériens</i>	33
<i>Phénologie des racines</i>	36
<i>Elaboration du rendements chez C. arabica</i>	38
1.6. La caféiculture au Guatemala	39
1.6.1. Principales caractéristiques écologiques des caféières	39
1.6.2. Cultivars et itinéraires techniques.	40
<i>Principales variétés cultivées de C. arabica et résistance aux nématodes</i>	40
<i>La pratique du greffage et les porte-greffes C. canephora</i>	43
<i>Itinéraires techniques des caféières au Guatemala</i>	45
1.6.3. Principaux aléas phytosanitaires	47
<b>2. LES PARASITES : <i>PRATYLENCHUS</i> SPP.</b>	<b>48</b>
2.1. Importance économique pour la caféiculture	48
2.2. Les principales espèces parasitant <i>Coffea</i> spp.	50
2.3. Distribution géographique de <i>Pratylenchus</i> spp. au Guatemala	53
2.4. Position systématique du genre <i>Pratylenchus</i>	55
2.5. Cycle biologique et pathologie	58
2.6. Caractéristiques morphologiques	59
2.7. Caractéristiques cytologiques	64
2.8. Relations Hôte-Parasite	64
2.8.1. Concepts et définitions	64
2.8.2. Diversité de la capacité parasitaire chez <i>Pratylenchus</i> spp.	68

<b>3. OBJECTIFS DE RECHERCHE</b>	<b>70</b>
 <b>Chapitre 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES</b>	 <b>73</b>
 <b>1. LES POPULATIONS ET ISOLATS DE <i>PRATYLENCHUS</i> SPP.</b>	 <b>74</b>
1.1. Origines géographiques	74
1.2. Collecte et élevage des isolats.	78
 <b>2. ETUDE MORPHO-ANATOMIQUE DE QUATRE ISOLATS DE <i>PRATYLENCHUS</i> SPP.</b>	 <b>80</b>
2.1 Fixation des nématodes	80
2.2. Préparation et observation des nématodes au microscope optique.	81
2.3. Préparation et observation des nématodes au microscope électronique à balayage (MEB).	85
 <b>3. CARACTÉRISATION BIOLOGIQUE DE TROIS ISOLATS DE <i>PRATYLENCHUS</i> SPP.</b>	 <b>86</b>
3.1. Etudes sur la reproduction des isolats de <i>Pratylenchus</i>	86
3.1.1. Etude du mode de reproduction de chaque isolat	86
3.1.2. Etude sur la reproduction inter-isolats	87
3.1.3. Capacité reproductive sur disques de carottes <i>in vitro</i> en fonction de la température	89
3.2. Etude comparée des relations hôte-parasite des isolats de <i>Pratylenchus</i> sur <i>C. arabica</i> et <i>C. canephora</i> .	90
3.2.1. Dynamique de pénétration des isolats dans les racines de caféiers	90
3.2.1.1. Matériel végétal	90
3.2.1.2. Méthodes d'inoculation	91
3.2.1.3. Méthodes d'observation des racines et des nématodes	92
<i>Préparation des racines</i>	92
<i>Observation sur racines écrasées</i>	92
<i>Observations histologiques sur coupes de racines</i>	95
3.2.2. Etude comparative en pots de la capacité des isolats de <i>Pratylenchus</i> à causer des dégâts sur <i>C. arabica</i> et <i>C. canephora</i> .	95
3.2.2.1. Matériel végétal	95
3.2.2.2. Méthodes d'inoculation	96
3.2.2.3. Variables observées et analyses des données	96
 <b>4. ETUDES SUR LA BIOÉCOLOGIE DE QUELQUES POPULATIONS NATURELLES DE <i>PRATYLENCHUS</i></b>	 <b>98</b>
4.1 Caractéristiques agro-écologiques des parcelles d'étude	98



<b>4.2.</b>	<b>Méthodes d'échantillonnage et d'extraction des nématodes de racines de caféiers</b>	<b>98</b>
4.2.1.	Méthodes de prélèvement des échantillons	98
4.2.2.	Méthodes d'extraction des nématodes	99
<b>4.3.</b>	<b>Etude des fluctuations de populations de <i>Pratylenchus</i> sur <i>C. arabica</i> à deux altitudes différentes.</b>	<b>100</b>
4.3.1.	Description des parcelles étudiées et de l'échantillonnage	100
4.3.2.	Variables observées et analyses des données	101
<b>4.4.</b>	<b>Capacité à causer des dégâts au champ d'une population de <i>Pratylenchus</i> et effets du greffage et des traitements nématicides dans la lutte contre ce parasite</b>	<b>102</b>
	<i>Parcelle d'étude et dispositif expérimental</i>	102
	<i>Variables observées :</i>	102
<b>Chapitre 3: RÉSULTATS-DISCUSSION</b>		<b>104</b>
<b>1.</b>	<b>ETUDES MORPHOLOGIQUE ET ANATOMIQUE DE QUATRE ISOLATS DE <i>PRATYLENCHUS</i> SPP.</b>	<b>105</b>
<b>1.1.</b>	<b>Observations morpho-anatomiques des isolats</b>	<b>105</b>
1.1.1.	Résultats	105
1.1.1.1.	Observations au microscope électronique à balayage (MEB) des caractères morphologiques de surface de quatre isolats	105
	<i>Configuration du premier anneau céphalique</i>	105
	<i>Annélation de la capsule céphalique des femelles</i>	107
	<i>Forme de l'extrémité distale de la partie postérieure des femelles</i>	107
	<i>Ornementations des champs latéraux</i>	112
1.1.1.2.	Observations au microscope optique des caractères morphologiques et anatomiques des femelles de trois isolats	112
	<i>Forme de l'extrémité distale de la partie postérieure des femelles</i>	112
	<i>Forme et contenu de la spermathèque</i>	120
	<i>Observation de l'hémizonion</i>	120
1.1.2.	Discussion	125
	<i>Configuration du premier anneau céphalique</i>	125
	<i>Annélation de la capsule céphalique des femelles</i>	129
	<i>Ornementations des champs latéraux</i>	130
	<i>Forme de l'extrémité distale de la partie postérieure des femelles</i>	130
	<i>Forme et contenu de la spermathèque</i>	132
	<i>Observation de l'hémizonion</i>	132
<b>1.2.</b>	<b>Etude morphométrique de trois isolats</b>	<b>133</b>
1.2.1.	Résultats	133

<i>Etude morphométrique des femelles</i>	133
<i>Etude comparée de la longueur des mâles</i>	145
<b>1.2.2. Discussion</b>	147
<i>Différenciation des isolats d'après les descripteurs morphométriques des femelles</i>	147
<i>Comparaison des isolats avec quelques populations de référence et problématique de l'origine des isolats pour leur analyse morphométrique</i>	149
<i>Apport de la longueur des mâles dans la différenciation des isolats</i>	153
<b>1.3. Discussion-conclusions</b>	155
<b>2. CARACTÉRISATION BIOLOGIQUE DE TROIS ISOLATS DE <i>PRATYLENCHUS</i></b>	157
<b>2.1. Mode de reproduction et interfécondité des isolats de <i>Pratylenchus</i></b>	157
<b>2.1.1. Résultats</b>	157
2.1.1.1. Mode de reproduction des isolats	157
2.1.1.2. Interfécondité entre isolats	159
<b>2.1.2. Discussion</b>	159
2.1.2.1. Mode de reproduction des isolats	159
2.1.2.2. Interfécondité entre isolats	160
<b>2.2. Capacité reproductive des isolats de <i>Pratylenchus</i> sur rondelles de carottes <i>in vitro</i> en fonction de la température.</b>	162
<b>2.2.1. Résultats</b>	162
<i>Influence de la température sur la capacité reproductive</i>	162
<i>Influence de la température sur le sex-ratio</i>	165
<i>Influence de la température sur la proportion de juvéniles et d'oeufs</i>	165
<b>2.2.2. Discussion</b>	165
<i>Influence de la température sur la capacité reproductive</i>	165
<i>Influence de la température sur le sex-ratio</i>	170
<i>Influence de la température sur la proportion de juvéniles et d'oeufs</i>	170
<b>2.3. Etude comparée des relations hôte-parasite des isolats de <i>Pratylenchus</i> sur <i>C. arabica</i> et <i>C. canephora</i>.</b>	172
<b>2.3.1. Dynamique de pénétration des isolats dans les racines de <i>Coffea</i> spp.</b>	172
2.3.1.1. Résultats	172
<i>Dynamique de pénétration des isolats Moca, Chamtaca et Chitalon sur C. arabica cv. Catuai :</i>	172
- <i>Comparaison de la dynamique de pénétration entre les trois isolats</i>	173
- <i>Répartition des nématodes dans le système racinaire de C. arabica cv. Catuai</i>	174
- <i>Structure de la population infestante</i>	178
<i>Dynamique de pénétration des deux isolats Moca et Chitalon sur C. canephora cv. Nemaya</i>	180

	<i>Quelques aspects histopathologiques de l'infestation des racines de C. arabica cv. Catuai et C. canephora cv. Nemaya par Pratylenchus</i>	180
	- <i>Observations des infestations sur C. arabica</i>	180
	- <i>Observations des infestations sur C. Canephora cv. Nemaya</i>	182
	2.3.1.2. Discussion	184
	<i>Comparaison de la dynamique de pénétration des isolats sur C. arabica cv. Catuai</i>	184
	<i>Localisation des sites de pénétration de Pratylenchus dans le système racinaire de C. arabica cv. Catuai et histopathologie des infestations</i>	184
	<i>Structure de la population infestante des trois isolats dans les racines de C. arabica cv. Catuai</i>	189
	<i>Facteurs de résistance à Pratylenchus chez C. canephora cv. Nemaya</i>	189
<b>2.3.2.</b>	<b>Etude comparative en pots de la capacité des isolats à causer des dégâts sur C. arabica et C. canephora</b>	192
	2.3.2.1. Résultats	192
	<i>Capacité parasitaire des isolats sur Coffea spp. :</i>	192
	<i>Effets des isolats sur Coffea spp. :</i>	194
	<i>Relation entre poids frais des plants et densités de nématodes dans les racines</i>	200
	2.3.2.2. Discussion	204
	<i>Capacité parasitaire des isolats de Pratylenchus :</i>	204
	<i>Capacité des isolats de Pratylenchus à causer des dégâts sur Coffea spp.</i>	206
<b>2.4.</b>	<b>Conclusions et perspectives</b>	210
	<i>Composantes et variabilité de la capacité à causer des dégâts sur Coffea spp.</i>	210
	<i>Conséquences sur le choix des marqueurs biologiques pour caractériser les populations Pratylenchus spp.</i>	211
	<i>Conséquences sur l'élaboration de tests de résistance à Pratylenchus spp. pour le matériel génétique de Coffea spp.</i>	212
	<i>Statut d'hôte de C. canephora vs C. arabica vis à vis de Pratylenchus spp.</i>	213
<b>3.</b>	<b>ETUDE SUR LA BIOÉCOLOGIE DE QUELQUES POPULATIONS NATURELLES DE PRATYLENCHUS</b>	216
<b>3.1</b>	<b>Fluctuations saisonnières de deux populations de Pratylenchus sur C. arabica à deux altitudes différentes.</b>	216
	<b>3.1.1. Résultats</b>	216
	3.1.1.1. Description des fluctuations de populations de Pratylenchus	216
	<i>Site de Buena Vista (450 m d'altitude)</i>	216
	<i>Site de Moca (1200 m d'altitude)</i>	217
	3.1.1.2. Analyse des séries chronologiques	220
	3.1.1.3. Structure des populations de Pratylenchus	225
	3.1.1.4. Analyse des fluctuations	225



<b>3.1.2. Discussion</b>	231
<i>Implications pour la lutte contre Pratylenchus dans les caféières :</i>	242
<i>Conclusions et perspectives :</i>	243
<b>3.2. Evaluation pour une population naturelle de <i>Pratylenchus</i> de sa capacité à causer des dégâts dans une caféière et effets du greffage et des traitements nématicides</b>	246
<b>3.2.1. Résultats</b>	246
<i>Populations de nématodes</i>	246
<i>Taux de mortalité des plants</i>	246
<i>Production des plants</i>	249
<b>3.2.2. Discussion</b>	252
<b>Chapitre 4 : CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES</b>	258
<i>Sur la diversité morphologique et biologique intra- et/ou interspécifique des isolats étudiés</i>	259
<i>Sur le statut taxinomique des isolats</i>	264
<i>Sur les stratégies de protection intégrée contre les <i>Pratylenchus</i></i>	266
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	269
<b>PRODUCTION SCIENTIFIQUE</b>	288
<b>ANNEXES</b>	290

## Liste des figures

Chapitre 1	Figure 1.1	Architecture des organes végétatifs aériens (D'après Wrigley, 1988).	30
	Figure 1.2	Détail de l'extrémité d'un rameau plagiotrope avec bois de l'année en croissance et bois d'un an en production (D'après Wrigley, 1988).	30
	Figure 1.3	Système racinaire de caféiers. A : plant de <i>C. arabica</i> âgé de six ans (D'après Nutman, 1933) ; B : plant de <i>C. canephora</i> âgé de trois ans et demi (D'après Hatert, 1958).	32
	Figure 1.4	Constitution histologique d'une racine de <i>Coffea arabica</i> au début de la phase secondaire de croissance (D'après Dedecca, 1958).	34
	Figure 1.5	Périodes de croissance des rameaux de <i>C. arabica</i> dans la région du sud-ouest du Guatemala sur le versant sud de la Sierra Madre, à deux altitudes, (D'après San Juan <i>et al.</i> , 1982) et hypothétiques périodes de croissance racinaire.	37
	Figure 1.6	Diagramme de périodicité de croissance de poids sec des racines fines de <i>C. arabica</i> dans les conditions climatiques de la station de Ruiru au Kenya (D'après Cannell, 1985).	37
	Figure 1.7	Différents aspects des caféières sous ombrage.	41
	Figure 1.8	Principales étapes d'une pépinière de <i>C. arabica</i> greffé sur <i>C. canephora</i> au Guatemala.	44
	Figure 1.9	Symptomatologie des attaques de <i>Pratylenchus</i> sp. sur <i>C. arabica</i> .	49
	Figure 1.10	Distribution géographique par département des deux principaux genres, <i>Pratylenchus</i> spp. et <i>Meloidogyne</i> spp., parasitant les caféiers au Guatemala.	54
	Figure 1.11	<i>Pratylenchus coffeae</i> . (D'après Siddiqi, 1972).	56
	Figure 1.12	Appareil reproducteur d'une femelle adulte de <i>Pratylenchus coffeae</i> (D'après Roman & Hirschmann, 1969).	56
	Figure 1.13	Groupes phénotypiques des <i>Pratylenchus</i> spp. définis par Corbett & Clark (1983) d'après la configuration du premier anneau céphalique.	62
	Figure 1.14	Diagramme de l'extrémité antérieure des espèces de <i>Pratylenchus</i> avec les sensilles amphidiennes (D'après Trett & Perry, 1985).	63
	Figure 1.15	Schéma du système nerveux au niveau de la partie céphalique de <i>Pratylenchus</i> spp. (D'après Trett & Perry, 1985).	63
	Figure 1.16	Diagramme des relations hôte-parasite dans le cas de <i>Pratylenchus</i> sp.- <i>Coffea</i> sp. (D'après Bos & Parlevliet, 1995).	66



	Figure 1.17	Diagramme représentant le concept de vulnérabilité d'une plante hôte vis à vis d'un parasite en fonction de son degré de susceptibilité vs résistance et de sensibilité vs tolérance vis à vis de ce même parasite (D'après Bos & Parlevliet, 1995).	66
Chapitre 2	Figure 2.1	Carte hypsométrique du Guatemala figurant les zones de culture de <i>C. arabica</i> et le site de prélèvement de l'isolat de <i>Pratylenchus</i> Chamtaca.	75
	Figure 2.2	Carte hypsométrique de la région du sud-ouest du Guatemala avec localisation des quatre sites d'étude de population <i>in situ</i> et/ou de prélèvement d'isolats de <i>Pratylenchus</i> sur le versant sud de la chaîne volcanique Sierra Madre du Guatemala.	76
	Figure 2.3	Courbes de récupération de <i>Pratylenchus</i> (population de Buena Vista) au cours du temps par incubation de racines de <i>Coffea arabica</i> dans l'eau avec oxygénation par insufflation d'air.	79
	Figure 2.4	A : Jeune plantule de <i>Coffea</i> sp. (stade cotylédonaire) transplanté dans un embout de Pipetman de 105 mm de longueur et 15 mm de diamètre supérieur, rempli de sable de rivière tamisé (50-850µm) ; B : Système racinaire après coloration à la fuchsine acide.	93
	Figure 2.5	Diagramme d'une radicule latérale de jeune plantule de <i>Coffea</i> sp. et répartition des zones d'observation de la dynamique de pénétration des isolats de <i>Pratylenchus</i> .	93
Chapitre 3	Figure 3.1	Vues au microscope électronique à balayage de la partie antérieure de femelles de quatre isolats de <i>Pratylenchus</i> .	106
	Figure 3.2	Vues au microscope électronique à balayage des parties antérieures de mâles de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	108
	Figure 3.3	Vues de profil au microscope électronique à balayage de la partie antérieure de femelles d'isolats de <i>Pratylenchus</i> faisant apparaître des subdivisions au niveau des anneaux céphaliques.	109
	Figure 3.4	Vues au microscope électronique à balayage de la partie postérieure de femelles de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	110-111
	Figure 3.5	Vues au microscope électronique à balayage de la région vulvaire de femelles d'isolats de <i>Pratylenchus</i> avec les champs latéraux.	113
	Figure 3.6	Profils des parties postérieures de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Moca.	114

Figure 3.7	Profils des parties postérieures de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Chamtaca.	115
Figure 3.8	Profils des parties postérieures de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Chitalon.	116
Figure 3.9	Partie postérieure de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Moca.	117
Figure 3.10	Partie postérieure de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Chamtaca.	118
Figure 3.11	Partie postérieure de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Chitalon.	119
Figure 3.12	Formes des spermathèques de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Moca.	121
Figure 3.13	Formes des spermathèques de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Chamtaca.	122
Figure 3.14	Formes des spermathèques de femelles de <i>Pratylenchus</i> de l'isolat Chitalon.	123
Figure 3.15	Région vulvaire de femelles de <i>Pratylenchus</i> montrant la variabilité de la forme et taille de la spermathèque.	124
Figure 3.16	Représentation en boîtes de Box de dix variables morphométriques pour trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	137
Figure 3.17	Cercle de corrélations inter-classes de dix variables morphométriques de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	139
Figure 3.18	Diagramme de dispersion des individus de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> selon les axes 1 et 2 de l'analyse factorielle discriminante sur les dix variables morphométriques STY, DGO, NAQ, L, V, a, b, b', c et c'.	141
Figure 3.19	Diagramme de dispersion des individus de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> selon les axes 1 et 2 de l'analyse factorielle discriminante sur les six variables morphométriques L, a, b, c, V, STY, avec introduction de populations de référence en individus supplémentaires.	143
Figure 3.20	Comparaison de la longueur de corps des mâles de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> avec celles d'allotypes (mâles) de différentes espèces morphologiquement proches de <i>P. coffeae</i> .	146
Figure 3.21	Capacité reproductive de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> en fonction de la température.	163
Figure 3.22	Effet de la température sur la capacité reproductive de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> , 65 jours après inoculation de 50 nématodes en élevage monoxénique sur rondelles de carottes <i>in vitro</i> .	164

Figure 3.23	Effet de la température sur le sex-ratio de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> en conditions d'élevage monoxénique sur disques de carotte <i>in vitro</i> .	166
Figure 3.24	Effet de la température sur la proportion de juvéniles et d'oeufs dans les populations de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> en conditions d'élevage monoxénique sur disques de carotte <i>in vitro</i> , 65 jours après inoculation de 50 nématodes.	166
Figure 3.25	Populations de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> sur des plants de <i>C. arabica</i> cv. Catuai et d'une descendance libre du clone <i>C. canephora</i> cv. Robusta T3751 (1-2) à trois dates différentes après inoculation de 100 nématodes. A : données brutes de populations de nématodes ; B : données transformées en log[x].	173
Figure 3.26	Répartition en % des <i>Pratylenchus</i> ayant pénétré dans les différentes parties des racines de jeunes plantules de <i>C. arabica</i> cv. Catuai, 96 heures après inoculation de 300 nématodes.	176
Figure 3.27	Racines latérales écrasées de jeunes plantules de <i>C. arabica</i> cv. Catuai parasitées par <i>Pratylenchus</i> sp. (Isolat Chitalon), 96 heures après inoculation.	177
Figure 3.28	Densités de <i>Pratylenchus</i> par mm linéaire de racines dans les différentes parties des racines latérales de jeunes plantules de <i>C. arabica</i> , 96 heures après inoculation de 300 nématodes.	179
Figure 3.29	Dynamique de pénétration de deux isolats de <i>Pratylenchus</i> sur jeunes plantules (stade cotylédonnaire) de <i>C. arabica</i> cv. Catuai et d'une descendance libre de <i>C. canephora</i> T3751(1-2), 24, 48 et 96 heures après l'inoculation de 300 nématodes.	179
Figure 3.30	Vues en coupe de racines de plantules <i>C. arabica</i> parasitées par <i>Pratylenchus</i> sp. (Isolat Chitalon).	181
Figure 3.31	Coupes transversales de racines de jeunes plantules de <i>C. canephora</i> cv. Nemaya.	183
Figure 3.32	Vues de racines latérales de jeunes plantules de <i>C. canephora</i> cv. Nemaya, écrasées sur lame.	183
Figure 3.33	Populations de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> sur des plants de <i>C. arabica</i> cv. Catuai et d'une descendance libre du clone <i>C. canephora</i> cv. Robusta T3751 (1-2) à trois dates différentes après inoculation de 100 nématodes.	193
Figure 3.34	Relation entre la densité de population de <i>Pratylenchus</i> par gramme de racines et le taux de (juvéniles et oeufs) / femelle sur plants de <i>C. arabica</i> cv Catuai et d'une descendance libre du clone <i>C. canephora</i> cv. Robusta T3751 [1-2], 100 jours après l'inoculation de 200 nématodes.	195



Figure 3.35	Evolution des poids frais relatifs moyens (en % du poids frais moyen des plants témoins), A : des racines ; B : de la partie aérienne et C : de la plante entière, pour les plants de <i>C. arabica</i> cv. Catuai et de <i>C. canephora</i> T3751(1-2), 100 jours après inoculation de 200 nématodes appartenant à un de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	199
Figure 3.36	Relation entre la moyenne des densités de nématodes par g de racines à 50 et 100 jours (moyenne des nombres de nématodes transformés en $\log[x+1]$ ) et le poids frais moyen des racines (A) et le poids frais moyen de la partie aérienne (B) des plants de <i>C. arabica</i> cv. Catuai 150 jours après inoculation de 200 nématodes de chacun des trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	201
Figure 3.37	Relation entre la densité de nématodes par g de racines et le poids frais relatif des racines (A) et de la partie aérienne (B) des plants de <i>C. arabica</i> cv. Catuai et des plants d'une descendance libre de <i>C. canephora</i> cv. Robusta T3751 [1-2] à 100 jours après inoculation de 200 nématodes pour trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	203
Figure 3.38	Densités de populations de <i>Pratylenchus</i> (nématodes par g de racines) sur <i>C. arabica</i> sur deux sites à deux altitudes différentes : 450 m (Buena Vista) et 1200 m (Moca) ; dans le sud-ouest du Guatemala.	217 218
Figure 3.39	Autocorrélogrammes des séries chronologiques de données mensuelles (Buena Vista) et bimensuelles (Moca) de densité de populations de <i>Pratylenchus</i> sur <i>C. arabica</i> de deux sites à deux altitudes différentes: 450 m et 1200 m, respectivement.	221
Figure 3.40	Spectrogrammes des transformées de Fourier des séries chronologiques de données mensuelles (Buena Vista) et bimensuelles (Moca) de densités de populations de <i>Pratylenchus</i> sur <i>C. arabica</i> (fenêtre de Tukey-Hamming).	222
Figure 3.41	Transformées de Fourier filtrées pour les harmoniques de la fréquence fondamentale (12 mois) de séries chronologiques de densités de populations de <i>Pratylenchus</i> sur <i>C. arabica</i> sur deux sites à des altitudes différentes : 450 m (Buena Vista) et 1200 m (Moca).	224
Figure 3.42	Densités de populations (nématodes par g de racines) et proportions (% de la population totale) de juvéniles, femelles et mâles de <i>Pratylenchus</i> sur <i>C. arabica</i> sur les deux sites d'altitude différentes à 450 m (Buena Vista) et 1200 m (Moca).	226
Figure 3.43	Relation entre l'indice oeufs / femelle et la densité de population de <i>Pratylenchus</i> par g de racines sur <i>C. arabica</i> pour les trente-six données mensuelles de suivi de populations sur le site de Buena Vista.	227

Figure 3.44	Autorégression sur un pas de temps $t = 1$ mois, des données mensuelles (Buena Vista, $n = 48$ ) et bimensuelles (Moca, $n = 36$ ) de densités de populations de <i>Pratylenchus</i> par g de racines de <i>C. arabica</i> sur deux sites à deux altitudes différentes : 450 et 1200 m respectivement.	228
Figure 3.45	Relation entre le taux de multiplication mensuel et les densités de populations de <i>Pratylenchus</i> par g de racines de <i>C. arabica</i> sur deux sites à des altitudes différentes : 450 m (Buena Vista) et 1200 m (Moca).	229
Figure 3.46	Relation entre l'indice d'ombrage et la densité de populations moyenne de <i>Pratylenchus</i> (moyenne des effectifs par g de racines, de 1992 à 1995 transformés en $\log[x+1]$ ) dans les parcelles de plants greffés de <i>C. arabica</i> , avec ou sans traitements nématicides.	248
Figure 3.47	Taux de mortalité de plants observés au moment de la récolte, un, deux, trois et quatre ans après plantation (1991) dans les parcelles de plants greffés et non greffés de <i>C. arabica</i> parasités par <i>Pratylenchus</i> avec ou sans nématicides.	250
Figure 3.48	Relation entre la densité de populations initiale de <i>Pratylenchus</i> en 1992 (moyenne des effectifs de nématodes par g de racines transformés en $\log[x+1]$ ) et le taux de mortalité de plants non greffés de <i>C. arabica</i> , avec ou sans nématicides.	250
Figure 3.49	Production de café cerise des parcelles de plants greffés ou non greffés de <i>C. arabica</i> parasité par <i>Pratylenchus</i> , avec ou sans traitements nématicides, deux, trois et quatre ans après plantation (1991).	251
Figure 3.50	Relation entre la densité de populations moyenne de <i>Pratylenchus</i> (moyenne des effectifs de nématodes par g de racines de 1992 à 1995, transformés en $\log[x+1]$ ) et la production de cerises de café à la troisième récolte (1995) dans les parcelles de plants non greffés de <i>C. arabica</i> , avec ou sans traitements nématicides.	251

## Liste des tableaux

Chapitre 1	Tableau 1.1	Observations de <i>Pratylenchus coffeae</i> Zimmermann (1898) sur <i>Coffea</i> spp. à travers le monde.	51
Chapitre 2	Tableau 2.1	Principales caractéristiques écologiques des sites d'étude de population <i>in situ</i> et/ou de prélèvement d'isolats de <i>Pratylenchus</i> .	77
	Tableau 2.2	Observations morpho-biométriques proposées par Loof (1991) et appliquées aux femelles des trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	83
	Tableau 2.3	Liste des inoculations pures ou croisées réalisées avec des néonates (juvéniles de 2ème stade) de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	88
Chapitre 3	Tableau 3.1	Synopsis des observations au microscope électronique à balayage de la configuration du premier anneau céphalique des femelles de quatre isolats de <i>Pratylenchus</i> prélevés sur caféiers au Guatemala et de différents autres isolats prélevés en régions tropicales ou subtropicales de <i>P. coffeae</i> et d'autres espèces morphologiquement proches, et de leur appartenance aux groupes de Corbett & Clark (1983).	126
	Tableau 3.2	Mensurations ( $\mu\text{m}$ ) des femelles de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> prélevés sur racines de caféiers et élevés sur rondelles de carottes <i>in vitro</i> . Moyenne $\pm$ Ecart type et (Minima-Maxima).	134
	Tableau 3.3	Matrices de corrélation de quatorze descripteurs morphométriques pour trois isolats de <i>Pratylenchus</i> . Les coefficients de corrélation en gras sont significativement ( $P \leq 0,05$ ) différents de zéro et sur fond gris, le sont pour les trois isolats.	135
	Tableau 3.4	Analyse univariée de dix descripteurs morphométriques de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> : Moca, Chamtaca et Chitalon.	138
	Tableau 3.5	Paramètres statistiques des deux axes factoriels discriminants de l'AFD réalisée sur dix variables morphométriques observées pour trois isolats de <i>Pratylenchus</i> : Moca, Chamtaca et Chitalon.	138
	Tableau 3.6	Structure canonique des deux axes factoriels discriminants, combinaisons linéaires de dix variables morphométriques de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> : Moca, Chamtaca et Chitalon.	139
	Tableau 3.7	Distances $D^2$ de Mahalanobis entre les trois isolats de <i>Pratylenchus</i> et probabilités du test de l'hypothèse nulle pour ces distances $D^2$ .	140
	Tableau 3.8	Classement des individus des trois isolats de <i>Pratylenchus</i> par rapport à leur isolat d'appartenance selon la statistique de Mahalanobis ( $D^2$ ) et pourcentages d'individus correspondants.	140



	Tableau 3.9	Paramètres statistiques des deux axes factoriels discriminants de l'AFD réalisée sur sept descripteurs morphométriques des trois isolats de <i>Pratylenchus</i> : Moca, Chamtaca et Chitalon.	140
	Tableau 3.10	Distances $D^2$ de Mahalanobis entre trois isolats de <i>Pratylenchus</i> et probabilités ( $P$ ) du test de l'hypothèse nulle pour les distances $D^2$ ; distances $D^2$ de Mahalanobis entre les valeurs moyennes des populations de référence et les centres de gravité des trois isolats de l'étude.	144
	Tableau 3.11	Longueur de corps des mâles de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	146
	Tableau 3.12	Populations finales de nématodes quatorze semaines après inoculation de un, deux ou dix juvéniles, sur rondelles de carotte, à 27°C, pour chaque répétition et pour trois isolats de <i>Pratylenchus</i> .	158
	Tableau 3.13	Effectifs de nématodes de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> ayant pénétré dans les différentes parties du système racinaire de jeunes plantules de <i>C. arabica</i> cv. Catuai, à 24, 48 et 96 heures après inoculation de 300 nématodes.	175
	Tableau 3.14	Taux moyen de juvéniles et oeufs par femelle et sex-ratio des populations parasitant les plants 100 jours après inoculation pour chaque isolat et cultivar et principaux résultats de l'analyse de variance.	195
	Tableau 3.15	Effet de trois isolats de <i>Pratylenchus</i> sur la hauteur de tige, le poids frais de racines, le poids frais de la partie aérienne et le poids frais total de plants de <i>C. arabica</i> cv. Catuai et de plants d'une descendance libre de <i>C. canephora</i> T3751 (1-2), 50, 100 et 150 jours après l'inoculation de 200 nématodes.	196
	Tableau 3.16	Résultats de l'analyse spectrale par transformation de Fourier des séries chronologiques de données mensuelles (Buena Vista) et bimensuelles (Moca) de densités de populations de <i>Pratylenchus</i> sur <i>C. arabica</i> pour les deux sites.	222
	Tableau 3.17	Influence du greffage sur <i>C. canephora</i> et des traitements nématicides (deux applications par an de 1 à 2 g de terbufos par plant) sur les densités de populations de <i>Pratylenchus</i> sur caféiers.	247
Chapitre 4	Tableau 4.1	Tableau synoptique résumant la diversité morphologique et biologique observée entre quatre isolats de <i>Pratylenchus</i> .	260

## Liste des annexes

Annexe 1 :	Données de production de café arabica. A : production annuelle des quatre premiers producteurs mondiaux ; B : production annuelle des pays d'Amérique Centrale et du Mexique ; C : surfaces de production des pays d'Amérique Centrale et du Mexique ; D : rendements des pays d'Amérique Centrale et du Mexique : les données de rendement sont lissées par la méthode des moyennes flottantes sur cinq ans (Source FAO, 1999).	291
Annexe 2 :	A : <i>Pratylenchus loosi</i> Loof, 1960 (D'après Siddiqi, 1977) ; B : <i>Pratylenchus panamaensis</i> Siddiqi et al., 1991 (D'après Siddiqi et al., 1991) ; C : <i>Pratylenchus gutierrezii</i> Golden et al., 1992 (D'après Golden et al., 1992) ; D : <i>Pratylenchus pseudocoffeae</i> Mizukubo, 1992 (D'après Mizukubo, 1992b).	292-295
Annexe 3 :	Cumuls mensuels de précipitations sur les cinq sites d'étude et/ou de prélèvement d'isolats de <i>Pratylenchus</i> .	296
Annexe 4 :	Courbes de températures pour les différents sites d'étude et/ou de prélèvement d'isolats : moyennes mensuelles des températures minimales et maximales ; températures minimales et maximales absolues de chaque mois. Les données correspondent à des stations météorologiques situées à proximité et à la même altitude que les sites étudiés. Les données correspondant aux deux sites Buena Vista et Chitalon (altitude proche) sont regroupées sur le même graphique.	297
Annexe 5 :	Protocole d'élevage monoxénique de <i>Pratylenchus</i> sur rondelles de carottes ( <i>Daucus carota</i> ) <i>in vitro</i>	298-300
Annexe 6 :	Descripteurs morphométriques des femelles de <i>Pratylenchus</i> (Loof, 1961).	301
Annexe 7 :	Nomenclature des formes d'extrémités postérieures de femelles de <i>Pratylenchus</i> spp. (D'après Frederick & Tarjan, 1989).	302
Annexe 8 :	Méthode de déshydratation des nématodes avant préparation pour observation au microscope électronique à balayage (D'après Baujard & Pariselle, 1987).	303
Annexe 9 :	Montage des nématodes sur portoir avant métallisation pour observation au microscope électronique à balayage	304
Annexe 10 :	Représentation du système d'incubation des disques de carottes avec bullage pour extraction des <i>Pratylenchus</i> .	305
Annexe 11 :	Protocole de réalisation de coupes histologiques de racines de plantules de <i>Coffea</i> spp.	306-309
Annexe 12 :	Technique de coloration des nématodes à la Fuchsine acide dans les tissus végétaux	310

## Chapitre 1 : introduction



Le café, Robusta et Arabica confondus, constitue le deuxième produit échangé sur le marché mondial après le pétrole. Le Guatemala est actuellement le quatrième producteur mondial d'Arabica avec 6,4% de la production mondiale (annexe 1) et le troisième producteur des dénommés "Arabicas doux" après la Colombie et le Mexique. La caféiculture a joué un rôle important dans le développement économique du pays. Durant les dernières années les exportations de café ont représenté en moyenne près de 4% du Produit National Brut et environ 20% du total des exportations. Sa production moyenne de café Arabica sur les cinq dernières années est de presque 250 000 tonnes de café vert. Pour mémoire, la production de café Robusta au Guatemala est anecdotique avec seulement 2 700 tonnes de café marchand (production mondiale de 2,2 millions de tonnes).

La culture du caféier au Guatemala a débuté au début du XIXème siècle (Lopez & Mariscal, 1995) mais ce n'est que vers la fin du XIXème siècle que cette culture a connu un essor important avec la création de grandes plantations. Au cours des 40 dernières années, ce pays a augmenté sa production de café Arabica de 100 000 à 250 000 tonnes de café marchand malgré une surface de production constante d'un peu plus de 250 000 ha (Source FAO, 1999). L'intensification de cette culture a en effet permis de plus que doubler le rendement moyen durant cette période en passant de 0,4 à 0,9 tonne par ha de café vert. Ce rendement reste cependant très inférieur à celui du Costa Rica qui est actuellement d'environ 1,6 tonne par ha. En effet la caféiculture au Guatemala a tout de même conservé un modèle de culture "traditionnel": sous ombrage, avec un emploi modéré des intrants (herbicides, fertilisants chimiques...) en opposition au modèle très intensifié du Costa Rica. Le rendement moyen des caféières du Guatemala est cependant supérieur à celui des trois premiers producteurs, Brésil, Mexique et Colombie.

L'intensification de la caféiculture n'a pas été sans conséquences sur l'incidence des attaques de nématodes comme nous le verrons ultérieurement. Les nématodes parasitant les racines de caféiers sont responsables de très importants dommages dans toute l'Amérique Latine (Campos *et al.*, 1990) et en particulier en Amérique Centrale (Villain *et al.*, 1999). Des observations d'attaques graves de caféiers par les nématodes sont déjà mentionnées au Guatemala par Alvarado en 1935. Certains des symptômes décrits par cet auteur paraissent similaires à ceux

qui peuvent être observés lors d'infestations par *M. incognita* (Anzueto, 1993 ; Hernández, 1997). Il mentionne également la présence de *Tylenchus coffeae* (= *Pratylenchus coffeae*). Du fait de leur habitat tellurique, de leur taille submicroscopique ainsi que de l'absence de symptomatologie caractéristique au niveau des organes aériens, la présence de nématodes phytoparasites n'est souvent pas détectée. En cas de mauvaise croissance ou de chlorose des caféiers, les agriculteurs et vulgarisateurs ont souvent tendance à mettre en avant des problèmes édaphiques (déficit hydrique, carences ou toxicités minérales, acidité du sol, etc...). De ce fait l'importance économique du parasitisme des caféiers par les nématodes est longtemps restée sous-estimée. Même au niveau des racines la reconnaissance des symptômes n'est pas toujours facile notamment dans le cas d'attaques de *Pratylenchus* spp. (nématodes des lésions) qui se traduisent par une nécrose non caractéristique du cortex radiculaire. Les symptômes liés aux attaques du genre *Meloidogyne* (nématodes à galles), sont plus facilement reconnaissables du fait de la présence de galles. Cela explique en partie que ce dernier genre soit rendu responsable de la majorité des problèmes de parasitisme tellurique comme par exemple au Guatemala (Schieber, 1966). Les nématodes n'ont réellement été pris en considération en Amérique Centrale que depuis les années 60 (Schieber & Sosa, 1960 ; Abrego & Holdeman, 1961 ; Salas & Echandi, 1961 ; Schieber, 1966).

Les traitements nématicides constituent encore en caféiculture une des méthodes de lutte les plus employées contre les nématodes. Différents facteurs ont cependant freiné leur usage. La crise du marché international du café à la fin des années 80 accompagnée de la suspension des quotas d'exportations ont entraîné une chute vertigineuse des cours du café (Daviron, 1995). Le marché du café est soumis depuis, à des fluctuations chaotiques engendrées par les variations de production du Brésil (gelées) et de nombreuses spéculations. Les producteurs ont dû s'adapter à ce nouveau contexte économique et se sont vus obligés de réduire et optimiser les coûts de production. Sur le plan de la lutte contre les nématodes, aux moments les plus forts de la crise, cette conjoncture économique entraîne pour les grandes et moyennes exploitations une réduction des traitements nématicides très coûteux mais de manière souvent non raisonnée. Les traitements préventifs au niveau des pépinières en particulier, pourtant indispensables dans de nombreux cas, ont souvent souffert de cette crise. Pour ce qui concerne les petits producteurs ayant de faibles ressources financières, les traitements nématicides restent souvent hors de leur portée. D'un point de vue écologique, les nématicides qui sont des biocides généraux peuvent avoir un impact



considérable sur l'activité biologique des sols et sur les nappes phréatiques après lessivage. Ce fait est aggravé par certaines caractéristiques propres à la plupart des zones de production de café : des précipitations de forte intensité, des sols fréquemment d'origine volcaniques très filtrants et une topographie des exploitations caféicoles très accidentée. Le Guatemala a d'ailleurs opté pour une politique d'exportation basée sur deux grands axes qui devrait le rendre compétitif sur le marché international du café de plus en plus exigeant : (1) proposer un produit de haute qualité (cafés gourmets, cafés d'origine) dont le prestige au niveau international n'est plus à faire et (2) donner l'image d'un produit respectueux de l'environnement en maintenant des systèmes de production traditionnels ayant un impact mineur sur l'agroécosystème de plus en plus en contact avec le tourisme international.

Ces différentes contraintes ont rendu la recherche de résistances aux diverses espèces et pathotypes de nématodes prioritaire dans les programmes de sélection de matériel génétique. Cette recherche de facteurs de résistance requiert bien sûr une connaissance la plus exhaustive possible du complexe parasitaire présent sur les caféiers. Une caractérisation des espèces du genre *Meloidogyne* parasitant les caféiers en Amérique Centrale a récemment été réalisée (Hernández *et al.*, 1996 ; Hernández, 1997). Bien que partielle, cette première approche a permis de mettre en évidence une importante diversité d'espèces et pathotypes. Aucune étude sur la diversité des populations de *Pratylenchus* spp. parasitant les caféiers en Amérique Centrale n'avait été entreprise jusqu'alors. L'étude de la diversité biologique des nématodes en liaison avec les études sur les relations hôte-parasite est d'un intérêt capital pour l'élaboration de stratégies de lutte, non seulement pour l'obtention de variétés résistantes ou tolérantes mais aussi pour l'établissement de mesures prophylactiques (quarantaines) et l'usage raisonné et efficace de nématicides et d'agents biologiques.

## **1. L'HÔTE : COFFEA SPP. ET SA CULTURE**

Les divers caféiers appartiennent à la famille des rubiacées dont la plupart des espèces sont des arbres ou des arbustes. Les caféiers sont rattachés aux genres apparentés : *Psilanthus* et *Coffea*. Plus d'une centaine d'espèces est actuellement répertoriée pour le genre *Coffea*. Toutes sont originaires du continent africain ou de Madagascar. Les deux principales espèces cultivées à travers le monde sont *Coffea arabica* et *C. canephora*.

### **1.1. Origines et diffusion de *Coffea arabica***

*C. arabica* trouve son origine sur les hauts plateaux du sud-ouest de l'Éthiopie, du sud du Soudan et du nord du Kenya, entre 1300 et 2000 m d'altitude. Des plants de *C. arabica* ont été introduits au Yémen vers le XV<sup>e</sup> siècle où ils ont été cultivés pour la première fois. Ce pays constitue le véritable centre secondaire de la diversité de *C. arabica* d'où s'est faite ensuite sa diffusion à travers le monde dès la fin du XVII<sup>e</sup> siècle (Charrier & Eskes, 1997).

Le fait notoire dans l'expansion mondiale de la culture de *C. arabica*, est qu'elle s'est faite à partir de très peu de matériel végétal en particulier pour l'Amérique latine. En effet les deux principales sources génétiques pour ce continent ont été : d'une part la variété *Typica* originaire de Java et introduite premièrement en Martinique sous forme d'un seul caféier; d'autre part la variété *Bourbon* originaire de l'actuelle île de la Réunion et qui a également été développée à partir d'un seul caféier. Le mode de reproduction autogame de l'espèce a de plus favorisé la fixation de lignées homogènes (Charrier & Eskes, 1997). La base génétique actuelle des cultivars de *C. arabica* est donc très étroite. Les récentes études comparant l'ADN des cultivars de *C. arabica* avec celui des lignées sauvages d'Éthiopie par marqueurs RAPD l'ont confirmé (Orozco *et al.*, 1994 ; Lashermes *et al.*, 1996 ; Anthony *et al.*, 1999).

### **1.2. Origines et diffusion de *C. canephora***

L'analyse du polymorphisme enzymatique chez *C. canephora* a révélé deux groupes génétiques : les "Guinéens" originaires d'Afrique de l'ouest et les "Congolais" originaires d'Afrique centrale (Berthaud, 1986). Cette analyse a également montré qu'il existe une forte prédominance de matériel végétal "Congolais" dans les diverses collections de travail.

La culture du caféier *C. canephora* n'aurait réellement débuté que durant la deuxième moitié du XIX<sup>e</sup> siècle au Congo où elle s'est développée à partir de l'origine zaïroise *Robusta*. Cette origine zaïroise a également fourni en 1901, le noyau de base de cette culture en Indonésie, sur l'île de Java où elle a prospéré du fait de sa vigueur, de sa productivité et surtout de sa tolérance à la rouille orangée *Hemileia vastatrix*.

La presque totalité des introductions de *C. canephora* en Amérique Centrale provient du Zaïre et d'Indonésie (Java) et de ce fait appartient essentiellement au groupe des "Congolais" (Eskes, communication personnelle). Au Guatemala, une grande partie des semences de



*C. canephora* utilisées pour la production de porte-greffes depuis 6 à 8 ans proviennent des descendance libes de seulement huit lignées introduites en 1989 du CATIE (Costa Rica) et originaires du Zaïre (deux lignées) et de Bogor (Java) (six lignées) (Anzueto, communication personnelle).

### **1.3. Organisation et diversité génétique chez le genre *Coffea***

Toutes les espèces étudiées sont diploïdes ( $2n = 22$  chromosomes) à l'exception de l'espèce *C. arabica* allélotétraploïde ( $4n = 44$  chromosomes) (Grassias & Kammacher, 1975).

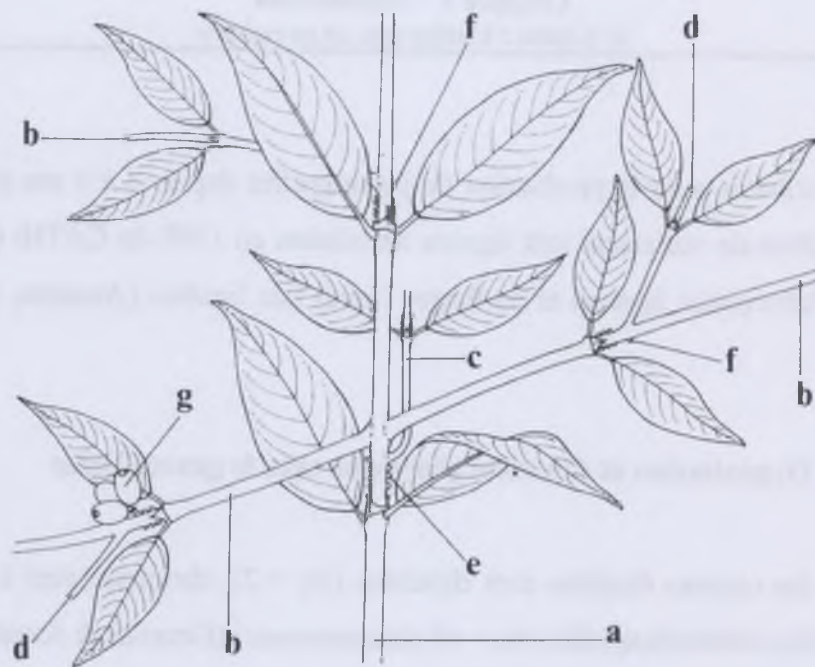
La plupart des espèces diploïdes étudiées sont auto-incompatibles et allogames. Dans le cas de *C. canephora* il s'agit d'un système d'incompatibilité gamétophytique contrôlé par un locus S multiallèlique (Berthaud, 1980). En revanche l'espèce tétraploïde *C. arabica* montre une autocompatibilité. Son mode de pollinisation mixte (entomophile et anémophile) lui autorise cependant une certaine allélogamie avec un taux de fécondation croisée de 5 à 15%.

L'analyse phylogénétique récente des espèces de caféiers par étude du génome chloroplastique (hérité par voie maternelle) a permis de définir six grands clades en accord avec leur distribution dans les grands ensembles écogéographiques et génétiques (Cros, 1996; Lashermes *et al.*, 1997). L'organisation des espèces en trois groupes biogéographiques est maintenant bien établie: le secteur "Guinéo-Congolais" en Afrique de l'Ouest et du Centre qui inclue l'espèce *C. canephora*, l'Afrique de l'Est qui inclue l'espèce *C. arabica* et la région Malgache (Charrier et Eskes, 1997 ; Anthony *et al.*, 1999 ).

### **1.4. Architecture des caféiers :**

#### *Architecture des organes aériens :*

Les caféiers ont une architecture typique des arbres de forêt tropicale (figure 1.1) avec une tige orthotrope de laquelle émanent par paires, des branches primaires plagiotropes opposées l'une à l'autre (Wrigley, 1988). La croissance des tiges se fait selon une ramification de type monopodial. Il en résulte une architecture pyramidale de l'arbre. Le feuillage est de type persistant. Les noeuds florifères sont présents uniquement sur le bois d'un an des rameaux plagiotropes et ne permettent qu'une seule floraison (figure 1.2).



**Figure 1.1.** Architecture des organes végétatifs aériens : **a** : rameau orthotrope ; **b** : rameau plagiotrope primaire provenant d'un bourgeon axillaire "tête de série" ; **c** : rameau orthotrope provenant d'un bourgeon axillaire ; **d** : rameau plagiotrope secondaire ; **e** : bourgeons axillaires en série ; **f** : bourgeon axillaire "tête de série" ; **g** : inflorescence provenant d'un bourgeon axillaire (D'après Wrigley, 1988)



limite entre bois de l'année (croissance végétative) et bois d'un an (floraison et fructification)

- A : rameau plagiotrope en floraison
- B: stipule (x3)\*
- C: domatie (x9)
- D: corolle (x3)
- E: inflorescence (x3)
- F: fruit (baie) (x1,5)
- G: nucule (café parche) (x1,5)
- H: graine (x3)
- I: coupe transversale d'une graine (endosperme) (x3)
- \* grossissement relatif par rapport à la représentation du rameau.

**Figure 1.2.** Détail de l'extrémité d'un rameau plagiotrope avec bois de l'année en croissance et bois d'un an en production (D'après Wrigley, 1988). \* : grossissement.

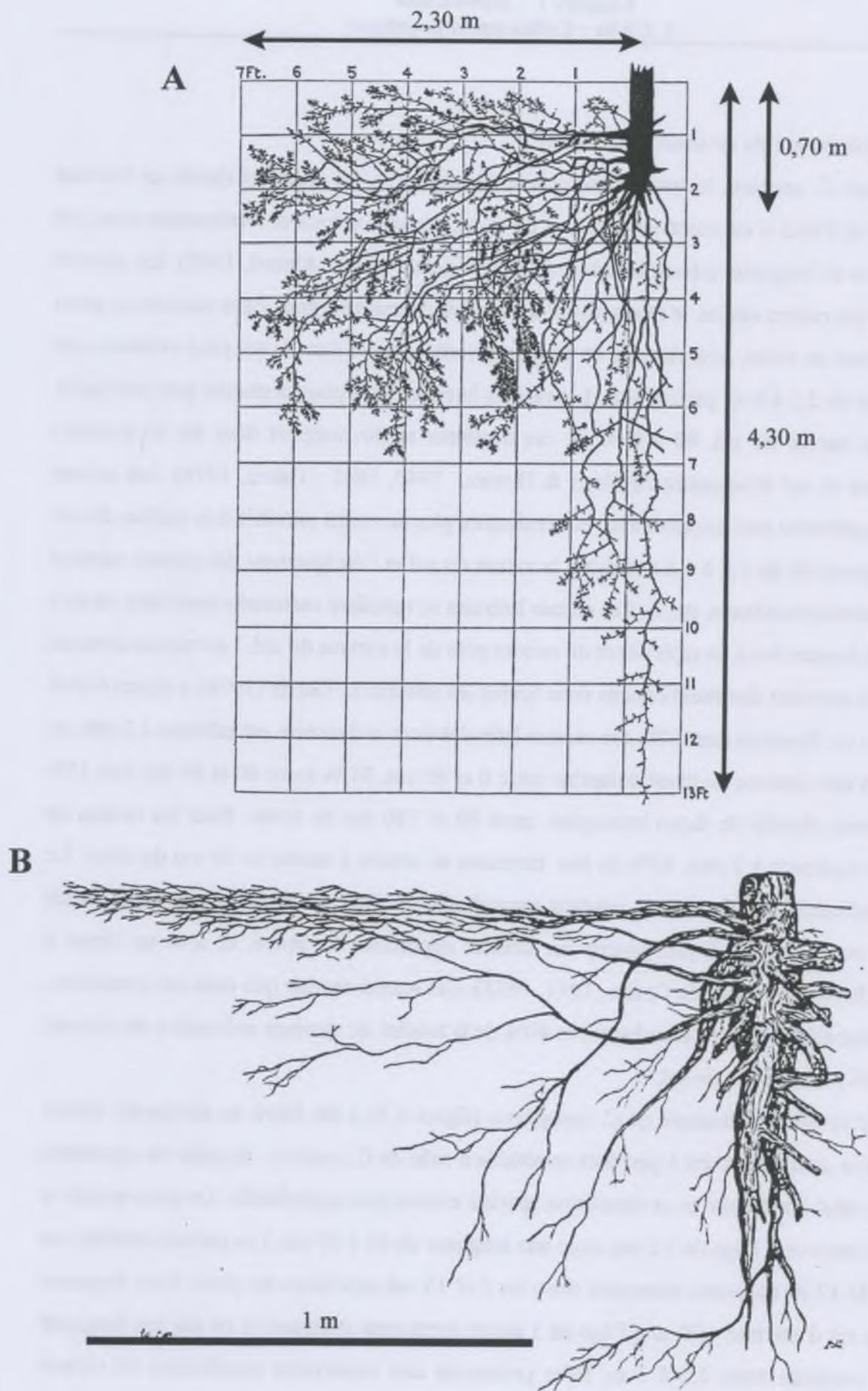


*Architecture du système racinaire :*

Chez *C. arabica*, le système racinaire (figure 1.3) a été étudié en détail par Nutman (1933, 1934). Celui-ci est construit autour d'un pivot, souvent unique et relativement court, de 30 à 50 cm de longueur suivant la nature du sol (Wrigley, 1988 ; Ahmed, 1982). On observe également des racines axiales, le plus souvent au nombre de quatre à huit. Elles naissent du pivot ou de la base du tronc, latéralement, et pénètrent verticalement dans le sol pour atteindre une profondeur de 2,5 à 3 m, parfois plus. Les racines latérales sont pour la plupart peu profondes. Suivant la nature du sol, 80 à 95% de ces dernières se développent dans les 30 premiers centimètres du sol (Guisacafre-Arrillaga & Gomez, 1940, 1942 ; Garriz, 1978). Les racines latérales supérieures sont traçantes avec une croissance plus ou moins parallèle à la surface du sol. Leur longueur est de 1,2 à 1,8 m suivant la nature du sol et l'éloignement des plantes voisines (caféiers, arbres d'ombrage, etc...). Ces racines latérales se ramifient essentiellement dans un plan horizontal donnant lieu à un tapis dense de racines près de la surface du sol. Les racines latérales inférieures émettent des ramifications dans toutes les directions. Garriz (1978) a observé chez *C. arabica* cv. Bourbon que 50% des racines latérales dont le diamètre est inférieur à 2 mm, se trouvent à une distance au tronc comprise entre 0 et 60 cm, 35 % entre 60 et 90 cm. Les 15% restants sont répartis de façon homogène entre 90 et 180 cm du tronc. Pour les racines de diamètre supérieur à 2 mm, 65% de leur biomasse se situent à moins de 60 cm du tronc. Le système racinaire des plants de *C. arabica* apparaît encore plus superficiel lorsque ceux-ci sont cultivés sous ombrage, lequel génère une couche importante de litière, et sous un climat à tendance humide, (Suarez de Castro, 1951, 1953). Cet auteur montre que dans ces conditions, plus de la moitié des racines absorbantes et 40% de la totalité du système racinaire se trouvent dans les 10 premiers cm du sol.

Le système racinaire de *C. canephora* (figure 1.3) a été décrit en détails par Hatert (1958). Son architecture est à peu près semblable à celle de *C. arabica*. Sa taille est cependant beaucoup plus importante et sa répartition spatiale encore plus superficielle. Le pivot atteint sa taille maximale vers l'âge de 3,5 ans avec une longueur de 50 à 90 cm. Les racines latérales, au nombre de 12 en moyenne, émergent entre les 2 et 15 cm supérieurs du pivot. Leur longueur moyenne est d'environ 1,50 m à l'âge de 3 ans et demi mais atteignent à 14 ans une longueur souvent comprise entre 2,5 à 3 m. Elles présentent une importante ramification en racines secondaires et nombreuses radicelles formant ainsi un enchevêtrement très dense de racines.

Une étude comparée du système racinaire de plants de *C. arabica* et de sept espèces



**Figure 1.3.** Système racinaire de caféiers. **A** : plant de *C. arabica* âgé de six ans (D'après Nutman, 1933) ; **B** : plant de *C. canephora* âgé de trois ans et demi (D'après Hatert, 1958)



diploïdes de *Coffea* spp., tous âgés de trois ans et demi, a montré que *C. canephora* est l'espèce qui présente le plus grand poids sec de racinelles ("feeder roots") : 19 g pour *C. canephora* contre 8 g pour *C. arabica* (Ahmed *et al.*, 1982). Ces mêmes auteurs ont observé que le rapport de poids sec entre organes aériens et racines était similaire pour ces deux espèces et environ égal à 2.

Aucune description du système racinaire de *C. canephora* utilisé comme porte-greffe n'a été réalisée à notre connaissance. Dans le cas d'une greffe de *C. arabica* sur *C. canephora* on peut supposer que l'architecture du système racinaire du porte-greffe reste la même que celle des arbres de *C. canephora* de pied franc. Sa taille pourrait cependant être réduite du fait d'un apport moindre en éléments carbonés de la part du greffon.

#### *Anatomie des racines :*

Les racines de caféiers ont une croissance primaire (figure 1.4) de durée très courte (Dedecca, 1958). La croissance secondaire qui débute par un cambium vasculaire fait son apparition dans la région située approximativement 5 cm en retrait de l'apex. Le phellogène survient premièrement dans le péricycle puis plus tard dans le phloème donnant ainsi origine à un périderme relativement fin. Ce tissu protecteur remplace l'épiderme qui meurt graduellement et finit par se détacher. Les racines latérales émergent à partir des cellules du péricycle situées sur les côtés extérieurs du protoxylème.

### **1.5. Ecophysiologie de *C. arabica* :**

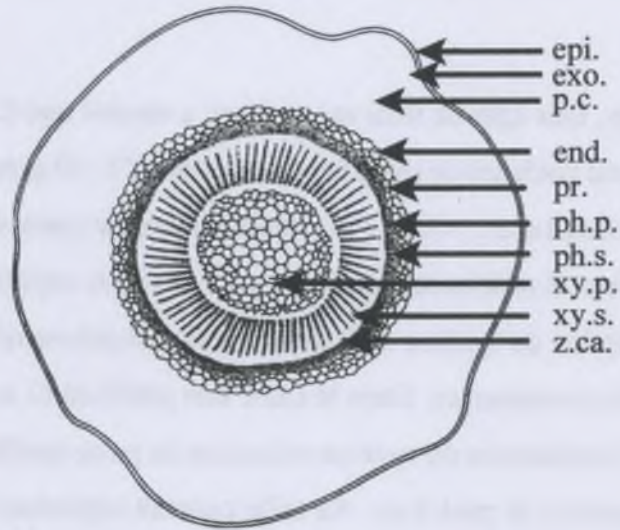
Les caractéristiques physiologiques de *C. arabica* sont liées à leur milieu d'origine en Ethiopie, à savoir les sous bois de forêts d'altitude, frais et humides avec une seule saison sèche.

#### *Phénologie des organes aériens :*

Dans les régions non équatoriales, le caféier suit un cycle unimodal de croissance et de fructification en relation avec le régime hydrique lui aussi unimodal (Cannell, 1972 ; 1985). Les rythmes phénologiques (croissance et floraison) des caféiers en phase de production sont plus dépendants des facteurs climatiques (température et régime hydrique) que des variations du photopériodisme limitées à un maximum de trois heures dans les régions tropicales où sont cultivés les caféiers (Cannell, 1972).

Les rythmes phénologiques de *C. arabica* dans le sud de l'Inde à une latitude proche de

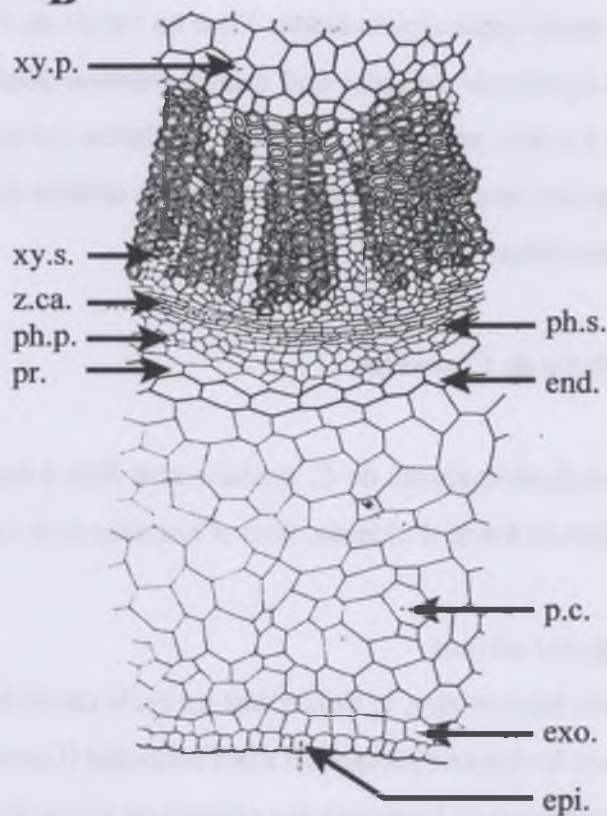
**A**



end. = endoderme  
epi = épiderme  
exo. = exoderme  
p.c. = parenchyme cortical

ph.p. = phloème primaire  
ph.s. = phloème secondaire  
pr = péricycle  
xy.p. = xylème primaire  
xy.s = xylème secondaire

**B**



**Figure 1.4.** Constitution histologique d'une racine de *Coffea arabica* au début de la phase secondaire de croissance. **A** : coupe transversale à environ 5 cm de l'apex ; **B** : détails histologiques de la coupe transversale précédente (D'après Dedecca, 1958).



celle du Guatemala et avec des variations saisonnières climatiques très similaires ont été décrits par Vasudeva & Ramaiah (1979). Durant la saison sèche qui présente des températures plus basses, en particulier durant la nuit, la croissance des tiges est ralentie. En revanche, c'est durant cette saison que se produisent initiations florales. Le stress hydrique permet en effet de lever progressivement la dormance des bourgeons floraux. C'est vers la fin de la saison sèche (mars-avril) qu'on assiste aux floraisons déclenchées par les premières pluies ("blossom showers"). Ce changement climatique aussi caractérisé par une augmentation des températures, induit également une poussée de croissance de nouveaux rameaux. Ceux ci poursuivront leur croissance durant la saison des pluies en donnant naissance à de nouveaux noeuds ramifères, sites des bourgeons florifères de la saison suivante. Cette croissance n'est cependant pas constante. Des premières pluies jusqu'à juillet, on observe une première phase de croissance des rameaux qui est lente. Après un ralentissement de la croissance des rameaux, une deuxième phase de croissance, cette fois rapide, est observée d'août à novembre.

Un schéma semblable de croissance des rameaux de *C. arabica* (figure 1.5) est observé dans le sud-ouest du Guatemala, région où ont été réalisées les études au champ sur *Pratylenchus*, avec des variantes en fonction de l'altitude (San Juan *et al.*, 1982).

Pour expliquer ce ralentissement de la croissance des tiges au milieu de la saison des pluies, divers facteurs pourraient intervenir de manière combinée : périodicité intrinsèque de croissance, détournement des assimilats par les fruits en développement qui entraîne une inhibition des bourgeons latéraux, conditions de hautes températures et stress hydrique durant la journée (Cannell, 1985). Ces conditions de faible hygrométrie et parfois de hautes température sont en effet observées au Guatemala en période de canicule (voir Chapitre 2, § 1.1).

Cette dynamique de croissance des tiges ne nous intéresse pas directement pour nos études de nématologie mais leur connaissance peut-être un indicateur intéressant de la dynamique de croissance des racines comme nous le verrons dans le paragraphe suivant.

C'est également durant la saison des pluies dont les températures sont plus élevées que durant la saison sèche dite "fraîche", qu'a lieu la fructification. Quant à la phase de maturation des cerises, au Guatemala, elle débute dès la fin du mois d'août aux plus basses altitudes (< 600 m) pour se terminer début novembre. Aux moyennes altitudes autour de 900 m et aux plus hautes altitudes (> 1200 m) cette période s'étend de fin septembre à début décembre et de début décembre à début mars, respectivement.

*Phénologie des racines :*

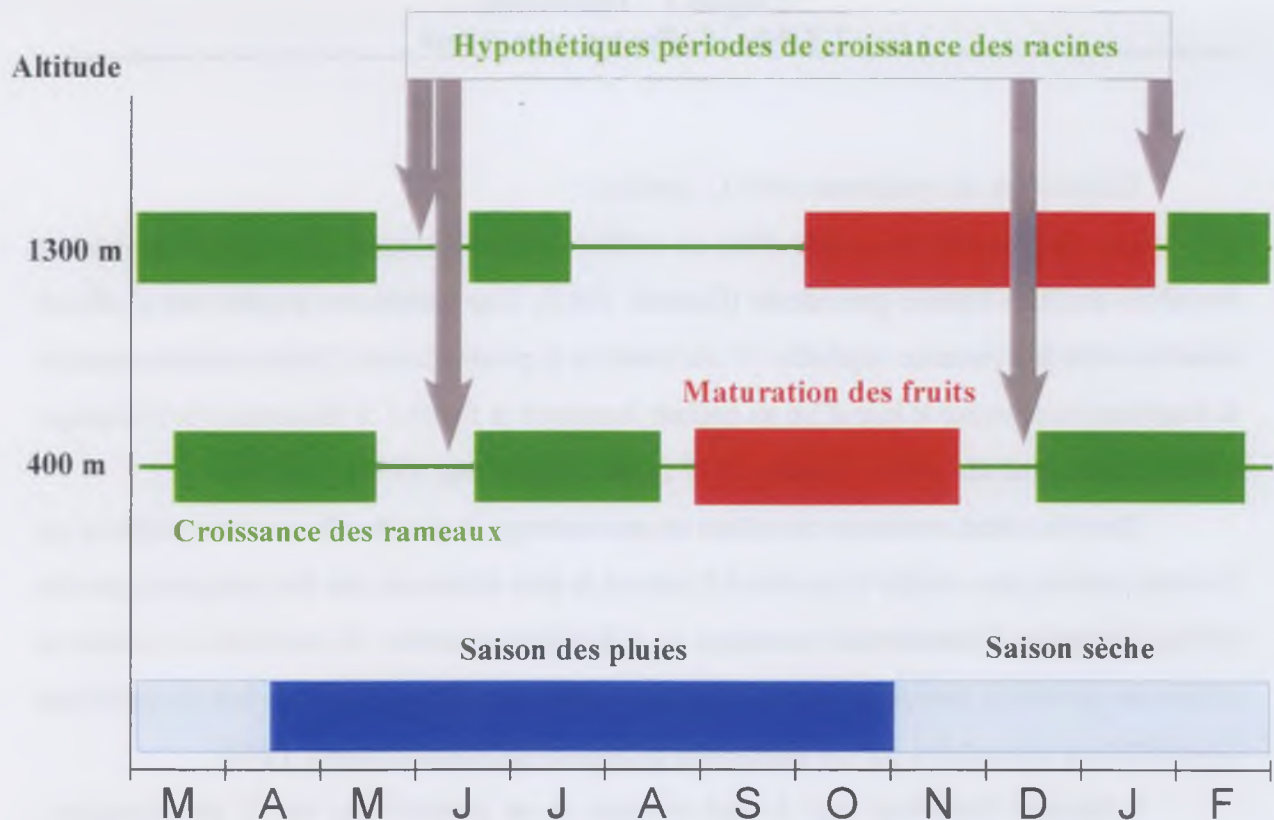
Contrairement aux tiges dont la croissance se fait essentiellement par “poussées”, les racines montrent une croissance plus continue dans le temps bien qu'on assiste à certaines périodes d'activité plus importante.

Cannell (1971) a étudié la croissance des racines de différentes tailles dans les conditions du Kenya. Sur des caféiers dont on retire régulièrement les bourgeons floraux donc sans production, les racines primaires lignifiées de diamètre supérieur à 3 mm montrent deux pics de croissance qui coïncident avec les deux saisons des pluies. Les racines de diamètre compris entre 1 et 3 mm ainsi que les fines racelles montrent également deux pics de croissance mais qui coïncident avec les deux saisons sèches. Pour les racines de diamètre inférieur à 1 mm, on observe un seul pic qui coïncide essentiellement avec la saison sèche “fraîche”. Ces dernières drainent les assimilats depuis les feuilles matures ou âgées et puisent dans les réserves d'hydrates de carbone localisées dans les grosses racines primaires. Le pivot quant à lui montre un ralentissement de sa croissance entre les deux longues saisons de pluies successives. D'une façon générale il semble que les périodes de croissance des racines les plus fines, encore non lignifiées, ont lieu durant les périodes sèches et précèdent les pics de croissance d'élongation des tiges, ceci ayant été observé en Tanzanie (Wakefiel, 1933), au Kenya (Huxley & Turk, 1975) et au Brésil (Maestri & Barros, 1977). Les racines blanches gardent cet aspect durant deux ans avant de se lignifier (Huxley & Turk, 1975).

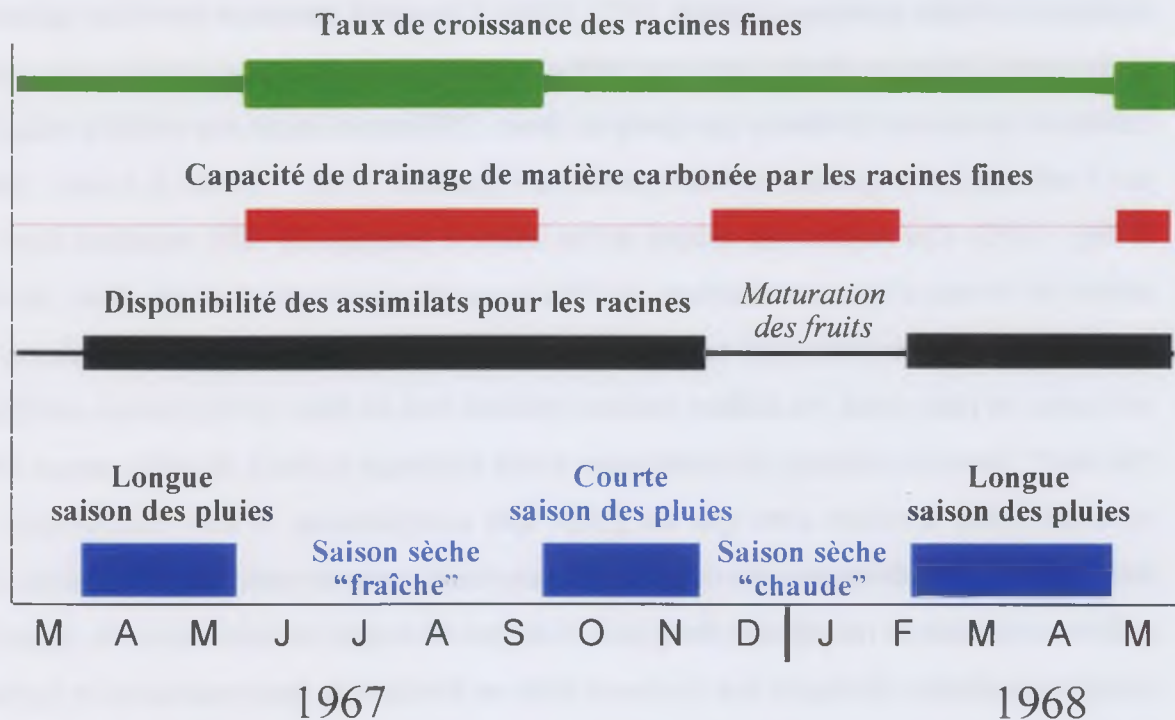
La fructification a également une influence sur le ralentissement de la croissance végétative dont celle des racines (Cannell & Kimeu, 1971). Dans un premier temps, les fruits drainent les réserves d'hydrates de carbone, affectant ainsi la croissance des racines (figure 1.6). Cependant, la croissance des racines fines (diamètre inférieur à 3 mm) est alors moins affectée que celle des racines bien lignifiées (Cannell & Huxley, 1969). Dans un deuxième temps, la fructification restreint l'apport d'assimilats aux points de croissance végétative. La croissance des racines fines est alors plus affectée que celle des racines ligneuses. Dans une troisième étape, l'effet de la fructification entraîne même une mortalité importante des fines racelles.

Aucune étude sur la croissance des racine n'a été réalisée à notre connaissance dans les conditions climatiques d'Amérique centrale. Cependant d'après les travaux de Cannell (1971) et les observations de la croissance des organes aériens des caféiers au Guatemala (San Juan *et al.*, 1982), on peut en déduire pour la région étudiée des périodes hypothétiques de croissance radiculaires (figure 1.5).





**Figure 1.5.** Périodes de croissance des rameaux de *C. arabica* dans la région du sud-ouest du Guatemala sur le versant sud de la Sierra Madre, à deux altitudes, (D'après San Juan *et al.*, 1982) et hypothétiques périodes de croissance racinaire.



**Figure 1.6.** Diagramme de périodicité de croissance de poids sec des racines fines de *C. arabica* en fonction de : (1) la disponibilité pour les racines des assimilats, liée à la fructification et en particulier la maturation des fruits et (2) la capacité des racines à drainer la matière carbonée en tant qu'organes "puits" ; dans les conditions climatiques de la station de Ruiru au Kenya (D'après Cannell, 1985).

*Elaboration du rendement chez C. arabica :*

La production de cerises chez un caféier dépend fortement du nombre de noeuds florifères produits l'année précédente (Cannell, 1985). Une corrélation positive est d'ailleurs observée entre la croissance végétative d'une année et la production de l'année suivante puisque la fructification a lieu sur le bois d'un an comme le montre la figure 1.2 (Beaumont & Fukunaga, 1958 ; Montoya *et al.*, 1961 ; Gómez, 1977 ; Gebre-Egziabher, 1978).

Dans les mêmes conditions de culture et sans ombrage, le nombre de noeuds fructifères est la composante la plus variable d'un arbre à l'autre et la plus influencée par les pratiques agricoles comme l'irrigation, l'amendement organique ou la fertilisation azotée. En revanche le nombre de cerises par glomérule (noeud) et le poids frais par cerise n'expliquent que très peu les variations de production engendrées par ces différentes pratiques agricoles (Cannell, 1973).

L'intensité lumineuse agit à deux niveaux et en premier lieu sur la photosynthèse. *C. arabica* a un comportement typique de plante ombrophile puisque les feuilles ayant poussé à l'ombre sont plus efficaces pour la photosynthèse que celles qui se sont développées en plein soleil. De plus, dans les conditions de plein soleil sous les tropiques, les radiations solaires que reçoivent les feuilles sont trois à cinq fois supérieures à leur seuil de saturation. De plus, leur température peut alors être de 5 à 20°C supérieure à leur température optimale, ce qui peut entraîner des dégâts physiques (Cannell, 1971, 1985). L'intensité lumineuse intervient également en favorisant l'initiation florale. Dans leur habitat naturel de sous-bois intensément ombragé, les caféiers ne produisent d'ailleurs que quelques fleurs. Différentes études ont révélé la réduction par l'ombrage de la quantité de fleurs produites (Osendorf, 1962 ; Castillo & Lopez, 1966 ; Willey, 1975). Ces auteurs ont montré qu'un indice d'ombrage de 50% entraînait chez des caféiers de 18 mois d'âge, une réduction : de 30% du nombre de noeuds avec des fleurs, de 40% du nombre d'inflorescences par noeud et de 50% du nombre de fleurs par inflorescence. En revanche, en plein soleil, les caféiers peuvent produire tant de fleurs qu'ils peuvent souffrir de "die-back" (mort descendante) en conséquence d'une surcharge en fruits. En effet, autour de 20 semaines après floraison alors que les grains sont complètement formés (endosperme des semences), les fèves deviennent des organes puits prioritaires pour les assimilats et minéraux. Les caféiers condamnés au remplissage des grains n'ont pas développé de mécanismes de régulation qui leur permettraient de réguler leur charge en fruits en fonction de leurs ressources en hydrates de carbone et en minéraux. Cette incapacité de purger l'excès de charge en fruits est rare parmi les plantes ligneuses pérennes (Cannell, 1975, 1985). Cette caractéristique du caféier peut avoir

des conséquences importantes sur le niveau de tolérance des caféiers à un parasite tel que les nématodes. En effet un caféier même après destruction partielle de son système racinaire suite à une attaque de nématodes ne serait pas en mesure de réguler sa production. Il en résultera pour les caféiers en âge de produire et parasités un risque de dépérissement accéléré.

## **1.6. La caféiculture au Guatemala**

### **1.6.1. Principales caractéristiques écologiques des caféières.**

Il existe deux régions principales de production de café au Guatemala. L'une se situe sur les versants des massifs montagneux constituant la chaîne volcanique appelée "Sierra madre" qui traverse le pays d'est en ouest dans sa partie méridionale (figures 2.1 et 2.2). C'est plus particulièrement sur le versant sud descendant jusqu'à la plaine de la côte Pacifique, que s'est développée la culture des caféiers. Dans cette zone, *C. arabica* est cultivé entre 600 et 1600 m environ.

La deuxième région importante pour la culture du café se situe dans une région plus septentrionale sur le massif des "Verapaces" (figure 2.1). La zone de culture du caféier se situe entre 400 et 1200 m environ, altitudes moins élevées que pour la première région du fait d'un climat plus frais du fait de l'influence des alizés de l'océan atlantique.

Deux autres régions de production moins importantes sont situées, l'une sur le haut massif des "Cuchumatanes" dans la région de Huehuetenango à l'ouest du pays près de la frontière avec le Mexique et l'autre sur le massif "del Gallinero" près de la frontière avec le Honduras (figure 2.1).

Si l'on sait qu'il y avait très peu d'activité humaine avant l'introduction de la caféiculture dans la région des Verapaces, en revanche, il reste encore beaucoup d'incertitudes sur les activités agricoles développées sur le versant Pacifique de la chaîne volcanique "Sierra madre". Plusieurs auteurs s'accordent à dire qu'il y a peut-être eu des cultures précolombiennes de maïs et de cacao sur ces versants mais qui auraient été de toute façon très parsemées (de Surmain, 1996). La caféiculture au Guatemala a donc été implantée essentiellement sur fronts pionniers par défrichage de forêts très humides subtropicales chaudes dans le cas du versant Pacifique de la Sierra Madre et tempérées dans le cas du massif des Verapaces selon la classification de Holdridge (Anon., 1984).



Un fait important est que depuis leur implantation, la plupart des parcelles cultivées en caféiers n'ont subi aucune rotation de cultures. Nombre de parcelles sont cultivées en caféiers depuis plus d'un siècle. On peut penser que cette monoculture a pu favoriser l'adaptation de populations de parasites sédentaires (à l'échelle macroscopique) et à reproduction rapide tels que les nématodes.

Il existe une relative diversité des peuplements végétaux dans les caféières du Guatemala. Beaucoup d'espèces sont en effet associées aux caféiers avec deux fonctions principales: soit fournir de l'ombrage aux caféières soit former des haies vives antiérosives. L'ombrage temporaire des jeunes plantations se fait à l'aide d'arbustes à croissance rapide dont les principales espèces utilisées sont: *Crotalaria anigiroides*, *Cajanus cajan*, *Tephrosia vogeli*, *T. candida*, *Ricinus communis*, *Solanum bansii* et *Musa paradisiaca*. L'ombrage permanent (figure 1.7) est assuré par des arbres dont les principales caractéristiques sont un appareil racinaire profond pour ne pas entrer en compétition avec les caféiers pour l'eau et les éléments nutritifs, une croissance rapide ainsi qu'une frondaison étendue à feuillage persistant et fourni qui assure un ombrage dense et régulier (Beer *et al.*, 1998 ; ANACAFE, 1998). De nombreuses espèces de légumineuses répondent à ces critères. Les espèces les plus utilisées appartiennent au genre *Inga* et *Grevilea*. En Amérique centrale, le café étant souvent cultivé sur des pentes prononcées, des haies vives sont plantées pour limiter l'érosion des sols lors des précipitations très intenses. Pour ce faire, on utilise diverses espèces à croissance rapide et à système racinaire dense telles que *Drassena* sp., *Yucca elephantipes* (Amaryllidaceae), *Vetiveria zizanioides* (Gramineae), *Pterocarpus hayesi* (Fabaceae) et *Bravaisia integrerrima* (Acanthaceae). Pour limiter les phénomènes d'érosion, le contrôle chimique des adventices dans les jeunes caféières est peu pratiqué. Leur contrôle s'effectue par des fauches qui permettent l'installation d'une flore adventice contribuant à la diversité du peuplement végétal dans les plantations de caféiers avant que le recouvrement par le feuillage des caféiers ne soit total.

### 1.6.2. Cultivars et itinéraires techniques

#### *Principales variétés cultivées de C. arabica et résistance aux nématodes:*

La variété **Typica** qui a majoritairement contribué à l'implantation de la caféiculture en Amérique latine a progressivement été supplantée par la variété **Bourbon** depuis les années 50, du fait d'une plus grande productivité. Elle reste encore très utilisée (28% de la surface cultivée





**Figure 1.7.** Différents aspects des caféières sous ombrage. **A** : plantation de 7 ans sous arbres “adultes” d’ombrage *Inga* sp. et *Grevillea* sp. ; **B** : Jeune plantation de 2 ans en début de saison des pluies avec jeunes arbres d’ombrage *Inga* sp. taillés et haies anti-érosives de *Bravaisia* sp. ; **C** : plantation de 10 ans après taille des arbres d’ombrage *Inga* sp. en début de saison des pluies (site Moca).



au Guatemala) d'une part pour sa rusticité appréciée par les petits producteurs et d'autre part pour la qualité organoleptique de ces grains. **La variété Caturra** découverte au Minas Gerais au Brésil provient d'une mutation de la variété Bourbon. Elle possède un gène de nanisme (Carvalho *et al.*, 1991). Elle constitue actuellement la variété la plus cultivée dans la région. Au Guatemala, cette variété (23% de la surface cultivée en café) est surtout cultivée dans les grandes plantations car cette variété de port bas, très productive, requiert un mode de culture intensif avec un programme de fertilisation et de taille adéquats. Cette variété est utilisée dès les plus basses altitudes de culture de *C. arabica* (500 m). Dans les altitudes supérieures sa productivité peut fortement diminuer malgré un bon développement végétatif. **La variété Catuai** provient d'un croisement inter variétal réalisé au Brésil entre Mundo Novo et Caturra. Cette variété de port bas, bien que plus haute que le Caturra, est hautement productive. Elle a connu un grand succès auprès des producteurs guatémaltèques depuis son introduction dans les années 70 et concerne 32% de la surface cultivée en café. Tout comme la variété précédente, sa forte productivité requiert un itinéraire technique soigné. Son *preferendum* pour l'altitude est similaire à celui du Caturra. Du fait de sa grande diffusion, cette variété a été utilisée dans de diverses études sur les nématodes parasitant les caféiers en Amérique Centrale la révélant très sensible aux différentes populations de nématodes de cette région et en particulier à *Meloidogyne* spp. (Anzueto, 1993 ; Hernández, 1996) et *Pratylenchus* spp. (Anzueto, 1993). De ce fait cette variété a également été utilisée comme matériel génétique de *C. arabica* dans cette étude.

La faible diversité génétique au sein de ce groupe de cultivars (voir § 1.1) ainsi que la sensibilité de ce matériel végétal aux différents parasites et ravageurs ont obligé les sélectionneurs à rechercher et introduire des gènes de résistance extérieurs. Ce fut le cas pour la rouille orangée du caféier *Hemileia vastatrix* qui a dévasté les plantations de Sri Lanka à partir de 1869 pour ensuite gagner le Brésil en 1970 puis l'Amérique Centrale en 1976 (Avelino *et al.*, 1999). Différents croisements ont été réalisés entre les cultivars de *C. arabica* et l'hybride de Timor, croisement naturel de *C. arabica* et de *C. canephora* (Gonçalves & Rodrigues, 1976) afin d'introgesser des gènes de résistance à *Hemileia vastatrix*. Ils ont donné naissance dans les différents programmes de sélection aux diverses variétés de Catimors (Caturra x Hybride de Timor) et de Sarchimors (Villa Sarchi x Hybride de Timor) en Amérique centrale, en Colombie, au Brésil et au Kenya (Bertrand *et al.*, 1999). Certaines lignées de ces Catimors et Sarchimors présentent une résistance incomplète à *M. exigua* (Bertrand *et al.*, 1997). La diffusion de ces variétés en Amérique centrale s'est néanmoins heurté à quelques problèmes majeurs : une qualité

organoleptique médiocre pour certaines lignées, des avortements physiologiques importants des embryons des graines sous certaines conditions environnementales et enfin une inadaptation de ce matériel végétal aux petits producteurs dans l'impossibilité de maintenir des programmes intensifs de fertilisation et de taille (12% de la surface cultivée au Guatemala).

Une nouvelle voie de sélection de *C. arabica* a été ouverte par l'équipe de sélectionneurs du CIRAD afin d'introduire des gènes de résistance à différents parasites et ravageurs par la création d'hybrides F1, en croisant certains des cultivars actuels d'une bonne qualité organoleptique avec certaines lignées éthiopiennes (Bertrand *et al.*, 1998a, 1999). Certaines de ces lignées semi-spontanées ont montré en effet un bon niveau de résistance à différents pathotypes de *Meloidogyne* spp. présents en Amérique centrale (Anzueto, 1993 ; Hernández, 1997 ; Bertrand *et al.*, 1999). En revanche, aucune résistance n'avait été observée pour ces lignées vis à vis de *Pratylenchus* spp. (Anzueto, 1993). Il s'est avéré nécessaire de se tourner également vers la sélection de porte-greffes résistants en utilisant plus particulièrement le matériel génétique très diversifié de *C. canephora* pour lutter contre certains pathotypes de *Meloidogyne* spp., en particulier du Guatemala (*M. incognita*) et du Salvador (*M. arenaria* et *Meloidogyne* sp.), très pathogènes sur *C. arabica* (Anzueto, 1993 ; Hernández, 1997).

#### ***La pratique du greffage et les porte-greffes C. canephora :***

Afin de lutter contre la présence fréquente de nématodes souvent très pathogènes dans les plantations de caféiers du Guatemala, une méthode de greffage (figure 1.8) a été mise au point dans ce pays par Reyna (1966 et 1968). Les porte-greffes alors utilisés étaient des plants de *C. canephora* peu ou pas sélectionnés pour lesquels avait été observée de façon empirique une certaine résistance et/ou tolérance à certaines populations de nématodes. Ce greffage réalisé au stade paire de feuilles cotylédonaire ("mariposa") est couramment utilisé par les producteurs de café du Guatemala. Son succès est dû principalement à : (1) une très bonne maîtrise de la technique : 90 à 95 % de réussite au niveau de la pépinière ; (2) un bon comportement au champ vis à vis des attaques de *Pratylenchus* sp. ; (3) un coût supplémentaire très faible. Cette pratique culturale est également courante au Brésil. Elle est même systématiquement réalisée dans les zones infestées par *M. incognita* comme au Paraná. Un programme d'amélioration du *C. canephora* a conduit au Brésil à la création de la variété porte-greffe Apoata, résistante à divers pathotypes de *M. incognita* (Fazuoli, 1986; Gonçalves & Ferraz, 1986).

Au Guatemala, par contre, bien que le greffage sur *C. canephora* soit utilisé à grande





Positionnement du greffon *C. arabica* (60 jours après semis) coupé en biseau dans l'entaille du porte-greffe *C. canephora* (75 jours après semis).



Bandage de la zone de greffe avec un film plastique fin.



Passage en bac pour cicatrisation (30 -45 jours) sous ombrage et contrôle de l'humidité par aspersions



Transplant direct en sacs de polyéthylène. Le bandage est retiré 60 à 70 jours après greffage.



Pépinière sous ombrage : plants âgés de 6 mois



Pépinière de plants greffés récemment transplantés.

**Figure 1.8.** Principales étapes d'une pépinière de *C. arabica* greffé sur *C. canephora* au Guatemala.



échelle depuis plus de vingt cinq ans, aucune véritable sélection pour la résistance aux nématodes n'avait été entreprise jusqu'à récemment. Le greffage même sur porte-greffes non sélectionnés montre des résultats très satisfaisants dans le cas d'attaques de *Pratylenchus* sp. au Guatemala (Villain *et al.*, 1996). En revanche, il s'est avéré absolument nécessaire d'entreprendre un programme de sélection pour la résistance à certaines populations très agressives de *Meloidogyne* spp. et plus particulièrement vis à vis des populations de *M. incognita* du Guatemala et certaines populations du Salvador très pathogènes chez les cultivars actuels de *C. arabica* mais aussi chez la plupart des lignées de *C. canephora* (Anzueto, 1993 ; Hernández 1997). Un projet d'évaluation et de sélection de matériel génétique pour la résistance à diverses populations de *Meloidogyne* spp. présentes en Amérique Centrale a donc été mis en place au début des années 90 (Anzueto *et al.*, 1991 ; Anzueto, 1993) et a permis par la suite la création d'une variété porte-greffe Nemaya (Anzueto *et al.*, 1995; Bertrand *et al.*, 1999, 2000). Cette variété est en fait un hybride F1 de deux clones de *C. canephora* cv. Robusta : T 3751(1-2) et T3561 (2-1) de la collection du CATIE au Costa Rica et identifiés comme résistants à divers pathotypes de *Meloidogyne* spp. Le comportement de ce cultivar vis à vis de *Pratylenchus* spp. n'était cependant pas encore connu.

#### ***Itinéraires techniques des caféières au Guatemala:***

Le semis des graines est réalisé en germoirs. Le substrat subit un prétraitement chimique généralement au moyen d'un fumigant tel que le dazomet aux propriétés biocides générales. Après une période de germination de 45 à 60 jours, les plantules au stade feuilles cotylédonaire sont repiquées en pépinière dans des sacs de polyéthylène de 18 cm de diamètre et 25 cm de profondeur. Le substrat de terre utilisé pour le remplissage des sacs est généralement enrichi pour un tiers avec de la matière organique souvent constituée par de la pulpe fermentée de cerises de café. Ce substrat est généralement prétraité de la même manière que pour les germoirs. Durant cette période d'élevage des caféiers en pépinière qui dure généralement de 8 à 12 mois suivant les zones d'altitude, des applications préventives de nématicides souvent sous forme de granulés (aldicarbe, terbufos, phénamiphos) sont réalisées tous les 3 mois à raison de 0,1 g de matière active par sac. Il faut cependant signaler qu'assez fréquemment, la terre utilisée pour les pépinières est retirée de sites à proximité ou même sur d'anciennes parcelles de caféiers. La désinfection du substrat est de plus parfois mal réalisée (produit inadéquat, doses inadéquates, substrat pas assez humide, etc) ou pas faite du tout. C'est ainsi que bon nombre de pépinières sont

infestées par les nématodes et constituent l'un des principaux modes de diffusion de ces parasites dans les nouveaux vergers de caféiers. La plupart des plantations possèdent leur propre pépinière mais des transports de matériel végétal sont réalisées de façon non négligeable et sans contrôle phytosanitaire.

Les jeunes caféiers sont ensuite plantés en courbes de niveau dans des trous cubiques de 30 à 40 cm de côté ensuite remplis de terre souvent enrichie de matière organique (pulpe de cerises de café décomposée, excréments de volailles etc). La densité de plantation actuellement appliquée en Amérique Centrale est généralement de 5000 pieds par hectare ce qui correspond à un écartement de 2 m entre les lignes de caféiers et de 1 m entre les plants sur le rang.

Le cycle productif débute généralement 2 ans après plantation. Une première petite récolte est parfois obtenue la première année. Dans certaines régions de haute altitude, la première varie récolte a lieu après trois ans. Dans les régions fortement infestées par les nématodes, des applications annuelles de nématicides sont généralement effectuées préventivement durant la période avant production. Les doses généralement employées sont d'environ 0,7 à 1 g de matière active par plant selon la matière active presque toujours conditionnée sous forme granulée. Ces applications se réalisent dans un rayon d'environ 60 cm autour du tronc. Durant la période productive du caféier, il est nécessaire d'effectuer des tailles à cycle régulier permettant de régénérer et favoriser au maximum la production de bois fructifère de deuxième année. Les cycles de taille sont en général de 4 ou 5 ans en fonction de l'altitude.

Comme nous l'avons vu précédemment (§ 1.5.1), l'ombrage constitue une composante agronomique importante pour la plupart des caféières du Guatemala en particulier dans la région du versant Pacifique de la "Sierra Madre" où la saison sèche est bien marquée. En effet, les arbres d'ombrage modifient le microclimat des plantations de caféiers surtout durant les périodes de sécheresse. Ils permettent de tamponner les températures ambiantes extrêmes, basses la nuit et élevées en milieu de journée, et de limiter les importantes pertes hygrométriques (Willey, 1975 ; Willson, 1985 ; Wrigley, 1988 ; Beer *et al.*, 1998). Les arbres d'ombrage ont également un rôle important dans la conservation des sols (action anti-érosive) et l'amélioration de la fertilité des sols. Ce aspect est particulièrement important pour les sols d'origine volcanique en montagne car pauvres en matière organique et très propices à l'érosion (Bornemiza *et al.*, 1999). Ces arbres d'ombrage sont généralement taillés chaque année en fin de saison sèche ou en début de saison des pluies. Leur densité de plantation dépend de l'altitude. Celle recommandée aux plus basses altitudes (<900 m) est de 8m x 8m ; aux altitudes supérieures à 1500 m, elle sera plutôt de



12 m x 12 m (ANACAFE, 1998). Dans la région des Verapaces, une nébulosité et une hygrométrie élevées durant la majeure partie de l'année obligent à cultiver les caféiers sans ombrage sous peine de favoriser certaines maladies foliaires comme *H. vastatrix* et *Mycena citricolor*.

### **1.6.3. Principaux aléas phytosanitaires**

Au niveau de l'appareil aérien du caféier, les principales contraintes sont:

- pour les insectes : le scolyte des cerises de café, *Hypothenemus hampei* et avec une moindre importance la cochenille *Planococcus citri* (Pseudococcidae), la mineuse des feuilles, *Leucoptera coffella* (Lyonetidae) (ANACAFE, 1998 ; Dufour *et al.*, 1999).

- pour les maladies fongiques : les deux principales sont la rouille orangée *Hemileia vastatrix* et la tâche américaine des feuilles *Mycena citricolor*, cette dernière étant favorisée dans les systèmes de culture sous ombrage ou dans les milieux à forte nébulosité (Avelino *et al.*, 1999 ; Wang & Avelino, 1999).

Au niveau tellurique, divers ravageurs et parasites peuvent provoquer des dégâts importants sur l'appareil racinaire des caféiers :

- certains insectes peuvent localement présenter une nuisibilité d'importance économique comme la cochenille *Dysmicoccus cryptus* = *D. bispinosus* (Pseudococcidae) et les larves de *Phyllophaga* sp. (Scarabeidae) (García, 1992 ; ANACAFE, 1998).

- quelques maladies fongiques telluriques sont présentes. La plus fréquemment rapportée est le pathogène secondaire *Fusarium* spp. Son rôle dans le complexe pathogène tellurique et en particulier en association avec les nématodes est encore mal connu sur caféiers.

- Enfin les principaux parasites telluriques pour cette culture sont les nématodes que nous allons étudier plus en détail dans la partie qui suit.



## **2. LES PARASITES : PRATYLENCHUS SPP.**

Le genre *Pratylenchus* Filip'jev, 1936 aussi appelé nématode à lésions, contient plusieurs espèces largement distribuées dans le monde et qui occasionnent de graves dégâts sur diverses cultures de grande importance économique, tant en régions tempérées qu'en régions tropicales. Les espèces les plus largement répandues dans les zones tropicales et subtropicales sont: *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filip'jev & Schuurmans Stekhoven, 1941, *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filip'jev & Schuurmans Stekhoven, 1941 et *P. zaei* Graham, 1951 (Luc *et al.*, 1990).

### **2.1. Importance économique pour la caféiculture**

Les nématodes parasites des caféiers occasionnant le plus de dommages sur cette culture appartiennent principalement à deux genres tous deux endoparasites : *Meloidogyne* spp. Goeldi, 1887 et *Pratylenchus* spp. Filip'jev, 1936 (Campos *et al.*, 1990). Dans le cas de *Meloidogyne* spp., les pertes dues à ces nématodes en caféiculture, sont estimées à environ 10% sur toute l'Amérique Latine (Sasser, 1979). Une enquête a été réalisée par l'Association Nationale du Café (ANACAFE) dans une région importante de production de café dans le sud-ouest du Guatemala. Il a été estimé dans cette région que les nématodes, sans distinction de genres, sont responsables en moyenne d'une chute d'environ 20% de la production (Alvarado, 1997). A ces pertes de production il faut ajouter les coûts élevés de replantation des caféières. Les dommages causés aux racines entraînent des dysfonctionnements de la nutrition minérale et des relations hydriques de la plante (Wilcox-Lee & Loria, 1987). Ces perturbations physiologiques se traduisent par un ralentissement de la croissance et un jaunissement progressif du feuillage qui peut évoluer vers un dépérissement plus ou moins rapide de la plante (figure 1.9). Ces dégâts ne se manifestent que progressivement dans le temps et apparaissent souvent dans les parcelles sous forme de foyers plus ou moins diffus. La culture de *Coffea arabica* étant fréquemment implantée sur des versants en Amérique Centrale, les infestations de nématodes se répandent souvent en suivant la direction des pentes.

En Amérique Centrale, la monoculture de caféiers souvent mise en place à la fin du siècle dernier sans qu'il y ait eu depuis de rotations culturales, a pu favoriser sur le long terme, le





**Figure 1.9.** Symptommatologie des attaques de *Pratylenchus* sp. sur *C. arabica*. **A** : propagation des attaques de *Pratylenchus* le long des pentes à partir des foyers d'infection. **B** : foyer d'infection avec plantes chlorotiques présentant une défoliation partielle ; **C** : stade ultime avec défoliation totale au début de la saison sèche ; **D** : nécroses sur un système racinaire de jeune plant de pépinière ; **E** : disparition de la quasi totalité des racines latérales sur jeune plant de pépinière ; **F** : détail du cortex nécrosé d'un racine latérale.



développement de populations de nématodes bien adaptées à cette plante hôte. L'intensification de la caféiculture a également contribué à amplifier l'incidence des nématodes. La diminution ou suppression des arbres d'ombrage a permis d'augmenter la productivité des caféières mais a pu rendre par la même occasion les caféiers moins tolérants aux différents stress d'origine abiotique (facteurs climatiques, fertilité du sol) ou biotique dont les infestations de nématodes. De plus l'amélioration de la fertilité des sols due à l'apport important de matière organique par les arbres d'ombrage (voir § 1.5.2 et 1.5.3.) pourrait également induire une certaine tolérance des caféiers aux attaques parasitaires en général. Il a également été observé que la formation d'une litière importante peut dans certains cas avoir des effets dépressifs sur certains nématodes phytoparasites et permet le développement d'une micro faune et flore antagonistes des nématodes phytoparasites (Sayre, 1971 ; Norton, 1978). L'intensification de la caféiculture passe également par le recours à de nouvelles variétés de port bas (Catuai, Caturra, Catimors) très productives et de ce fait très exigeantes au plan nutritionnel. L'impact des attaques de nématodes sur ces cultivars peut donc être plus sévère que pour des variétés plus rustiques (Bourbon). L'acidification des sols par augmentation des fertilisations azotées, peut réduire considérablement la disponibilité des éléments nutritifs pour la plante (Bornemiza *et al.*, 1999). L'incidence des nématodes a donc pu également être aggravée par ces pratiques culturales.

## **2.2. Les principales espèces parasitant *Coffea* spp.**

*P. coffeae*, espèce décrite à partir d'une population prélevée sur racines de caféier à Java (Zimmermann, 1898), constitue actuellement l'espèce la plus citée sur caféiers (Tableau 1.1.). Elle est mentionnée comme responsable d'importants dégâts pour la caféiculture tant au niveau des pépinières qu'au niveau du champ, dans de nombreux pays à travers le monde (Campos *et al.*, 1990). Cette espèce constitue également un parasite important pour divers hôtes d'intérêt économique autres que les caféiers comme *Musa* spp. (Gowen & Quénehervé, 1990), *Citrus* spp. (Duncan & Cohn, 1990), *Dioscorea* spp., *Ipomoea batata* et *Solanum tuberosum* (Jatala & Bridge, 1990). Il est également présent sur de nombreuses adventices (Loof, 1991). Cette espèce a une très large distribution géographique principalement pantropique mais elle est également répertoriée en milieu subtropical au Japon, en Australie, en Afrique du sud, au Brésil et dans le sud des USA. Bridge (1997) avance l'hypothèse que ce nématode pourrait avoir la même origine géographique que les bananiers et plantains, c'est à dire les îles du Pacifique et les pays



**Tableau 1.1.** Observations de *Pratylenchus coffeae* Zimmermann (1898) sur *Coffea* spp. à travers le monde.

CONTINENT	PAYS	REFERENCE
AMERIQUES	Guatemala	Schieber & Sosa, 1960 Chitwood & Berger, 1960 Schieber, 1966
	El Salvador	Abrego <i>et al</i> , 1961 Whitehead, 1969 Gutierrez & Jimenez, 1970
	Costa-Rica	Salas & Echandi, 1961 Tarjan, 1971 Figueroa & Perlazo, 1982
	Venezuela	Flores & Yépez, 1969
	Brésil	Monteiro & Lordello, 1974
CARAIBES	Puerto Rico	Ayala, 1976
	République dominicaine	Schieber & Grullon, 1969
	Martinique	Kermarrec <i>et al.</i> , 1972
ASIE	Inde	Palanichamy, 1973
	Indonesie	Bally & Reydon, 1931
	Java	Zimmermann, 1898 (paratype) Sher & Allen, 1953 Whitehead, 1968
AFRIQUE	Tanzanie	Bridge, 1984

limitrophes d'où il aurait vraisemblablement été diffusé à travers le monde par le transport de germoplasme multiplié végétativement.

*P. coffeae* a longtemps été la seule espèce du genre mentionnée comme parasitant *Coffea* spp. en Amérique Centrale. Récemment, deux nouvelles espèces ont été décrites sur caféiers en Amérique Centrale, l'une provenant du Panama, *P. panamaensis* Siddiqi, 1991 et l'autre du Cota Rica, *P. gutierrezii* Golden *et al.*, 1992, toutes deux morphologiquement proches de *P. coffeae*. Aucune mention n'est faite sur leur pouvoir pathogène sur caféiers dans la littérature.

Il existe également de nombreuses observations concernant la présence du genre *Pratylenchus* sur *Coffea* spp. en Amérique Centrale et dans les Caraïbes sans identification au niveau spécifique. C'est le cas par exemple au Nicaragua (Sequeira-Bustamente *et al.*, 1979). A Cuba, Sampedro *et al.* (1986) observent que les dégâts les plus importants observés sur caféiers sont liés à la présence des genres *Meloidogyne* et *Pratylenchus* sans que les espèces soient précisées. Par ailleurs des individus restés non identifiés et associés à la présence de *P. coffeae* ont été observés sur caféiers au Costa Rica (Tarjan, 1971) et en Martinique (Kermarrec *et al.*, 1972).

D'autres espèces sont citées comme parasites des caféiers dans d'autres régions du monde. C'est le cas de *P. brachyurus* cité comme parasite important des caféiers au Brésil, dans diverses régions telles que l'état de São Paulo où il est considéré comme plus répandu que *P. coffeae* (Gonçalves *et al.*, 1978) ou dans l'état de Minas Gerais où il est également fréquemment observé (Lordello & Mello Filho, 1969 ; D'Antonio *et al.*, 1980 ; Campos & Lima, 1986). Il a également été observé sur caféiers au Pérou et en Côte d'Ivoire (Whitehead, 1968). D'autres espèces du genre sont citées de façon très ponctuelle sur caféiers sans que leur pouvoir pathogène vis-à-vis de cet hôte ne soit toujours connu. *P. pratensis* (de Man, 1880) Filip'jev, 1936 a été reporté dans une localité du sud de l'Inde (Whitehead, 1968). *P. goodeyi* Sher & Allen, 1953, qui est un important ravageur des bananiers et plantains d'altitude en Afrique de l'Est et aux îles Canaries a été détecté sur caféiers en Tanzanie (Bridge, 1984). *P. loosi* Loof, 1960, important parasite des théiers (*Camellia sinensis*) dans diverses régions d'Asie, a été observé sur caféiers au Sri Lanka (Whitehead, 1968). Une autre observation de cette espèce sur le continent

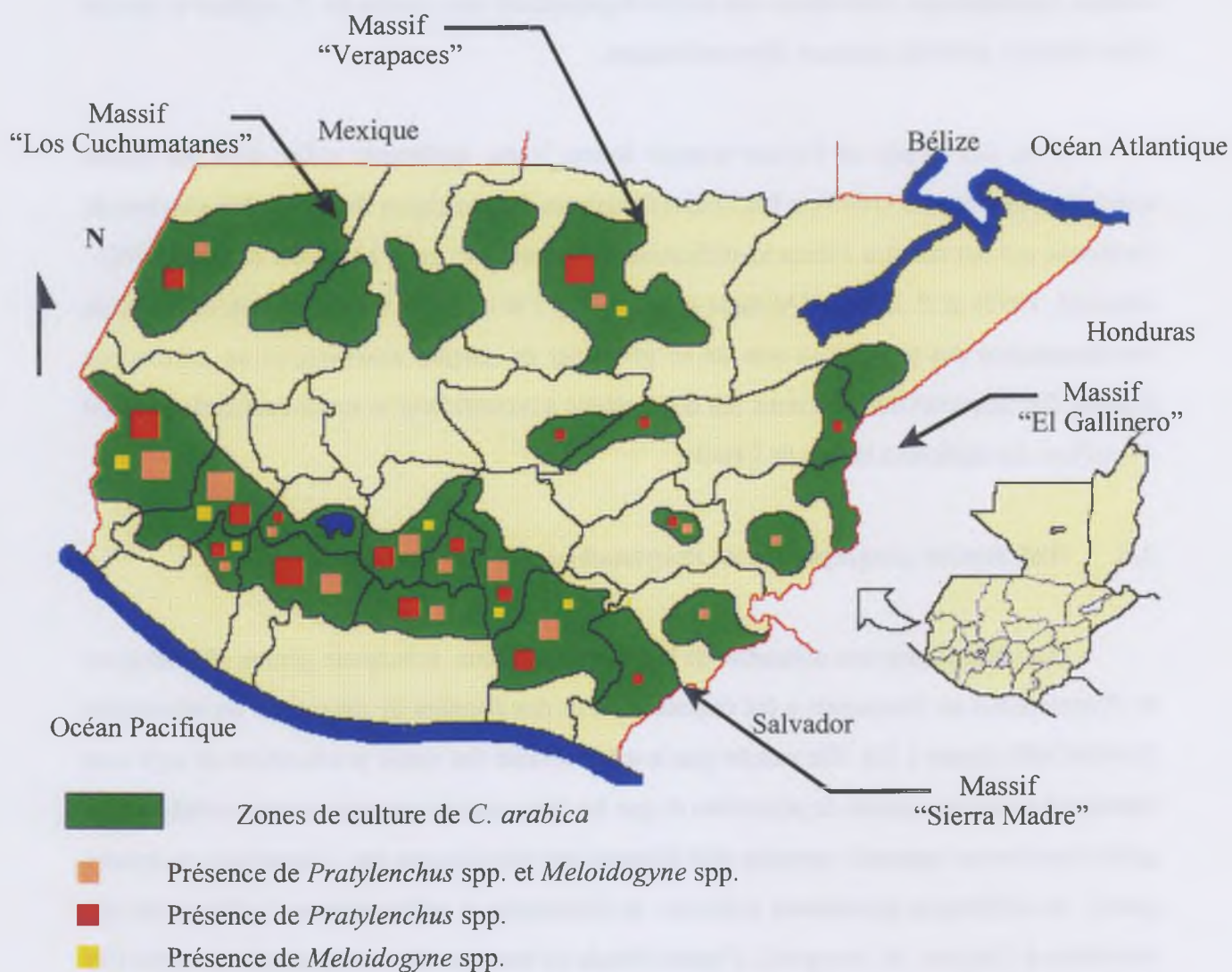
américain a été faite récemment dans des pâturages de Floride par Inserra *et al.* (1996). Ces auteurs, rappellent que cette espèce est morphologiquement très proche de *P. coffeae* et que les deux espèces peuvent aisément être confondues.

L'un des isolats de l'étude nommé Buena Vista, également utilisé dans les études conduites par Anzueto (1993), a fait l'objet d'analyses diagnostiques dans deux laboratoires de taxinomie qui ont conduit à deux identification différentes : *P. loosi* (Anzueto & Sarah, 1992 ; Mohotti, 1998) et *P. coffeae* (Al-Bana *et al.*, 1997). Cet exemple montre bien la difficulté de reconnaissance des espèces au sein de ce genre par de simples observations au microscope optique. Ces nouvelles données nous ont donc amené à reconsidérer le statut taxinomique initial *P. coffeae* des différents isolats de l'étude.

### **2.3. Distribution géographique de *Pratylenchus* spp. au Guatemala**

Une cartographie non exhaustive de la présence des deux principaux genres *Meloidogyne* et *Pratylenchus* au Guatemala a été réalisée à partir des données de diagnostic du laboratoire d'ANACAFE (figure 1.10). Elle montre que la quasi totalité des zones productrices de café sont infestées par ces deux genres de nématodes et que les deux genres peuvent souvent cohabiter. Le genre *Pratylenchus* apparaît cependant plus fréquent que *Meloidogyne* spp. Concernant ce dernier genre, les différentes populations prélevées au Guatemala et pathogènes sur caféiers, ont été rattachées à l'espèce *M. incognita*, d'après l'étude de leurs profils enzymatiques (estérase F1) et de leurs empreintes périnéales (Hernández *et al.*, 1996).





Nombre d'exploitations par département pour lesquelles a été détectée la présence de *Pratylenchus* spp. et/ou de *Meloidogyne* spp.

- ☐ 1-5 exploitations
- ☐ 5-10 exploitations
- ☐ 10-20 exploitations
- ☐ > 20 exploitations

**Figure 1.10.** Distribution géographique par département des deux principaux genres, *Pratylenchus* spp. et *Meloidogyne* spp., parasitant les caféiers au Guatemala ; d'après les données du laboratoire de diagnostic de l'Association Nationale du Café.

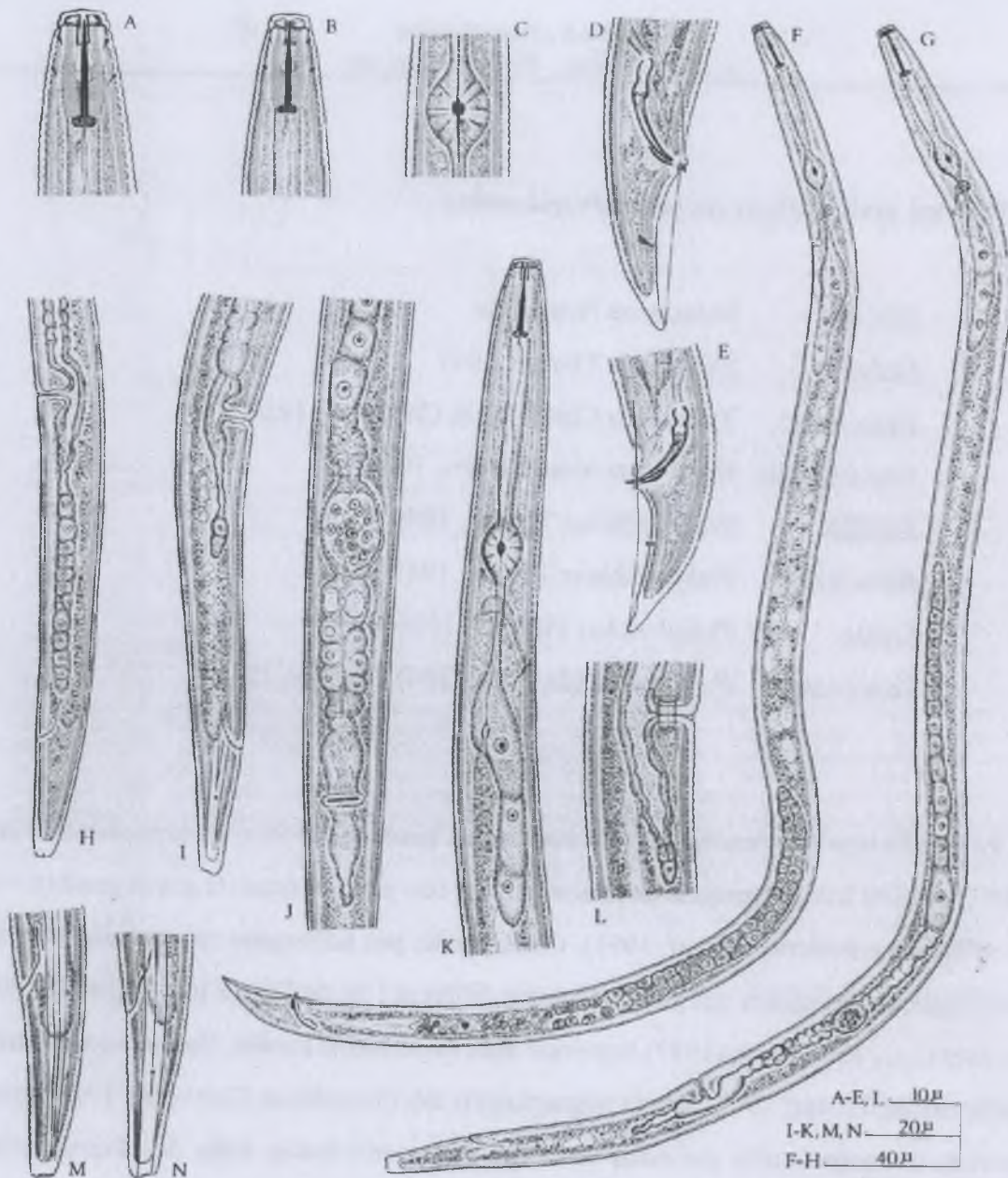
#### 2.4. Position systématique du genre *Pratylenchus*

<u>Phylum</u> :	Nemata ou Nematoda
<u>Ordre</u> :	Tylenchida Thorne, 1949
<u>Sous-ordre</u> :	Tylenchina Chitwood & Chitwood, 1950
<u>Super-famille</u> :	Hoplolaimoidea Filip'jev, 1934
<u>Famille</u> :	Pratylenchidae Thorne, 1949
<u>Sous-famille</u> :	Pratylenchinae Thorne, 1949
<u>Genre</u> :	<i>Pratylenchus</i> Filip'jev, 1936
<u>Espèce type</u>	<i>P. pratensis</i> (de Man, 1880) Filip'jev, 1936

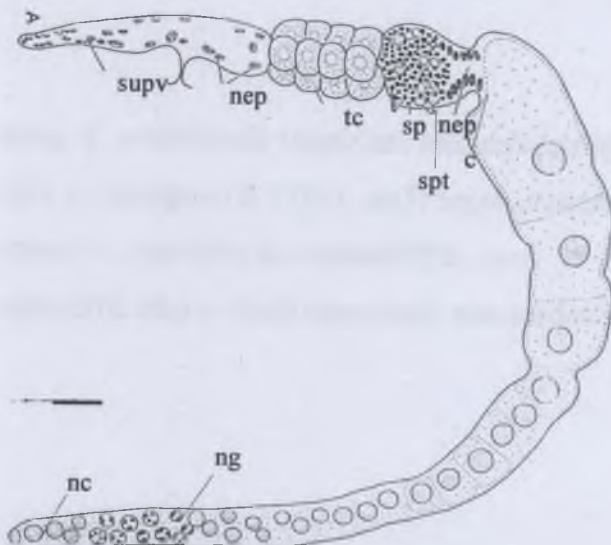
La famille des Pratylenchidae (= Nacobbidae Chitwood, 1950 = Radopholidae Allen & Sher, 1967) contient huit genres avec un total d'environ 160 espèces dont un grand nombre n'ont pas été suffisamment décrites (Loof, 1991). Cette famille peu homogène est considérée comme eurymorphique car les genres qui y appartiennent diffèrent l'un de l'autre par un grand nombre de caractères (Luc, 1987). Luc (1987) regroupe sous cette même famille, les deux sous-familles des Pratylenchinae Thorne, 1949 (formes migratrices) et des Nacobbinae Chitwood, 1950 (formes sédentaires). La sous-famille qui nous concerne dans cette étude, celle des Pratylenchinae (= Radopholinae Allen & Sher, 1967 ; = Hoplotylinae Siddiqi, 1971 ; = Hirsmanniellinae Fotedar & Handoo, 1978) contient les sept genres suivants: *Pratylenchus* Filip'jev, 1936 (Genre type) ; *Radopholus* Thorne, 1949 ; *Pratylenchoides* Winslow, 1958 ; *Hoplotylus* s'Jacob, 1960 ; *Zygotylenchus* Siddiqi, 1963 ; *Hirshmanniella* Luc & Goodey, 1964 ; *Apratylenchoides* Sher, 1973.

Si les genres au sein de la famille des Pratylenchidae sont facilement identifiables, le genre *Pratylenchus* par contre est considéré comme sténomorphique (Luc, 1987). Il comprend en effet des espèces morphologiquement très similaires et, donc, difficilement identifiables. L'espèce *P. coffeae* (figure 1.11) qui nous intéresse particulièrement dans cette étude a subi différentes synonymisations :





**Figure 1.11.** *Pratylenchus coffeae*. B-F : mâle ; A, G-N : femelles dont A-G, I-L : topotypes et M-N : prélevées sur caféiers dans le sud de l'Inde. D, E, H, I, M, N : extrémités postérieures. F : mâle entier ; G : femelle entière ; J : région de l'appareil reproducteur ; K : région de l'oesophage ; L : région de la vulve. J : vue ventrale ; autres : vues latérales (D'après Siddiqi, 1972).



**Figure 1.12.** Appareil reproducteur d'une femelle adulte de *Pratylenchus coffeae*.  
**c** : constriction ; **nc** : noyau de "cap cell" ; **nep** : noyaux des cellules épithéliales de la gonade ; **ng** : noyau germinal ; **sp** : spermatozoïdes ; **spt** : spermathèque ; **supv** : sac utérin post vulvaire ; **tc** : tricolumella (D'après Roman & Hirschmann, 1969).



*P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filip'jev & Schuurmans Stekhoven, 1941  
= *Tylenchus coffeae* Zimmermann, 1898  
= *Anguillulina coffeae* (Zimmermann, 1898) Goodey, 1932  
= *Tylenchus musicola* Cobb, 1919  
= *Anguillulina musicola* (Cobb, 1919) Goodey, 1932  
= *P. musicola* (Cobb, 1919) Filip'jev, 1936  
= *Tylenchus mahogani* Cobb, 1920  
= *Anguillulina mahogani* (Cobb, 1920) Goodey, 1932  
= *P. mahogani* (Cobb, 1920) Filip'jev, 1936  
= *Pratylenchus pratensis* apud Yokoo, 1956

Il convient de citer une étude sur la phylogénie du genre *Pratylenchus* car elle inclut l'un des isolats de notre étude, l'isolat Buena Vista (Al-Bana *et al.*, 1997). Pour les dix espèces de *Pratylenchus* étudiées, la région D3 de l'ADN ribosomique 26S s'est révélé être non variable entre populations conspécifiques. Ces auteurs arrivent à la conclusion que le genre *Pratylenchus* constitue en fait un groupe paraphylétique qui partage des ancêtres communs avec *Hirschmanniella belli*, *Nacobbus aberans* et *Radopholus similis*, espèces appartenant également à la famille des *Pratylenchidae*. Cinq des dix espèces étudiées: *P. musicola*, *P. scribneri*, *P. coffeae* (qui correspond en fait à l'isolat Buena Vista du Guatemala), *P. brachyurus* et *P. hexincisus* appartiennent à un même clade et sont toutes largement réparties dans les zones tropicales et subtropicales. Selon l'étude, elles partagent également un ancêtre commun avec *Nacobbus aberans* et *Radopholus similis*, espèces également à large distribution tropicale et subtropicale et dont l'origine pourrait être la région du Pacifique sud (Holdeman, 1986 ; Bridge *et al.*, 1997). Les auteurs avancent l'hypothèse d'une origine commune de ces espèces au sud de l'ancien continent Gondwana qui pourrait expliquer leur distribution majoritairement au sud des continents comme le fait remarquer Loof (1991).

Nous rappellerons ici les définitions relatives à quelques termes utilisés en taxinomie, concernant la description d'espèces : type : spécimen ayant servi à la description d'un genre ou sur lequel est fondé un groupe taxinomique ; toponyme = localité type : localité ou lieu d'origine de la population type d'une espèce ; topotype : spécimen collecté sur la localité type ; paratype : tous les spécimens de la population type (ayant servi à la description d'une espèce)

autres que l'holotype et de l'allotype ; holotype : spécimen choisi comme type d'une espèce par l'auteur de la description ; allotype : paratype du sexe opposé à l'individu choisi comme holotype.

## **2.5. Cycle biologique et pathologie**

Toutes les espèces du genre *Pratylenchus* sont des endoparasites migrants, c'est à dire que tous les stades depuis les néonates (deuxième stade juvénile) aux adultes sont libres et infestants. Ils peuvent sortir des racines à tout moment de leur cycle pour vivre temporairement dans le sol et aller ensuite parasiter de nouvelles racines. Ces parasites se nourrissent aux dépens des cellules du parenchyme cortical des racines provoquant ainsi au niveau de ce tissu des lésions ou cavités qui sont souvent colonisées ensuite par des pathogènes secondaires comme des champignons telluriques (*Fusarium* spp.) ou des bactéries (Loof, 1991). Cela se traduit par une destruction complète du parenchyme cortical et donc des nécroses généralisées donnant un aspect brun aux racines avec, dans le cas de racines lignifiées, un détachement du cortex, ne laissant en place que le cylindre central. De ce fait, le terme vernaculaire anglo-saxon *lesion nematodes* a été attribué aux *Pratylenchus* spp.

*P. coffeae* est une espèce bisexuelle à reproduction amphimictique obligatoire (Roman & Triantaphyllou, 1969). Les mâles sont donc très fréquents. En revanche, *P. brachyurus* qui parasite également les caféiers est une espèce monosexuelle (mâles absents ou très rares) qui se reproduit par parthénogénèse mitotique.

L'appareil reproducteur des femelles au sein du genre *Pratylenchus* est de type monoprodelphique (figure 1.12), la gonade postérieure étant réduite à une branche post-utérine ou sac post-vulvaire plus ou moins court et indifférencié (Roman & Hirshmann, 1969). L'appareil reproducteur est donc constitué d'un ovaire allongé, d'un oviducte, d'une spermathèque, d'un utérus et d'un vagin. La gonade antérieure qui est fonctionnelle est de type télogonique. L'ovaire est en effet divisé en une zone antérieure germinale avec une ou plusieurs rangées d'oocytes et une zone postérieure de croissance avec une seule rangée d'oocytes.

L'oviposition des oeufs s'effectue dans les racines (Loof, 1991). L'expulsion des oeufs avant même la fusion des pronuclei des gamètes a été observée chez des femelles de *P. coffeae* (Roman & Triantaphyllou, 1969). Chez cette même espèce, des développements intra-utérins d'oeufs ont cependant été observés dans une population prélevée au Honduras sur *Musa paradisiaca* (Wehunt & Edwards, 1971). Jusqu'à sept oeufs embryonnés ont été observés



dans des femelles de *P. coffeae* extraites de *Citrus* en Inde (Siddiqi, 1972). Chez des femelle de *P. coffeae* d'un isolat prélevé sur *C. arabica* au Salvador, élevées à 24-26°C, des rétentions d'oeufs ont été observées durant 14 jours dans la cavité utérine jusqu'au moment de l'éclosion sous la forme de deuxième stade juvénile (Moreno-Vaquerano, 1980). Pour ces femelles l'expulsion des oeufs est observée à partir du stade 8 blastomères, 72 h après le début de la segmentation. Des phénomènes d'*endotokia matricida* ont été observés sur des femelles de *P. coffeae* extraites de racines de *Citrus* (Loof, 1959). Chez *P. coffeae*, la première mue a lieu dans l'oeuf. L'éclosion intervient 6 à 8 jours après oviposition à 28-30°C, donnant naissance aux juvéniles de deuxième stade (Siddiqi, 1972). Hors de l'oeuf, les larves subissent ensuite trois mues. L'apparition des premiers adultes est observée 15 jours après l'éclosion sur tubercules de *Solanum tuberosum* et à 25-30°C (Gotoh, 1964). Dans ces conditions, la durée moyenne du cycle est de 27 jours. En l'absence d'hôte, des individus de *P. coffeae* peuvent survivre dans le sol humide durant 8 mois (Siddiqi, 1972). Aucune donnée n'a été trouvée sur la biologie sur les autres espèce morphologiquement proches de *P. coffeae* et récemment décrites c'est à dire *P. gutierrezii*, *P. pseudocoffeae* ou *P. panamaensis*.

## **2.6. Caractéristiques morphologiques**

Le genre *Pratylenchus* présente très peu de caractères morphologiques discriminants comme nous l'avons commenté précédemment. Ce fait est aggravé par la grande variabilité intraspécifique des principaux critères morphologiques et plus particulièrement morphométriques en relation avec les facteurs environnementaux (Roman & Hirshmann, 1969 ; Tarté & Mai, 1976 ; Tarjan & Frederick, 1978 ; Loof, 1991, Inserra *et al.*, 1996 ; Duncan *et al.*, 1998). Cependant, certains caractères morphologiques qualitatifs très variables comme la forme de la queue des femelles ou de la spermathèque ainsi que certains descripteurs morphométriques également variables restent encore des critères largement utilisés en taxinomie pour la description de nouvelles espèces comme certaines morphologiquement proches de *P. coffeae*: *P. loosi* Loof, 1960 ; *P. panamaensis* Siddiqi *et al.*, 1991 et pour le diagnostic. De ce fait, de nombreuses incertitudes et contradictions subsistent dans la taxinomie du genre *Pratylenchus*. Luc (1987) reconnaît pour ce genre, 59 espèces et 13 espèces *inquirendae*; tandis que Handoo & Golden (1989) mentionnent 63 espèces, 17 espèces *inquirendae* et 4 *Nomina nuda* et enfin Loof (1991) : 47 espèces et 28 espèces *inquirendae*. Pour le genre *Pratylenchus*, un grand nombre de



nouvelles espèces considérées comme discrètes et de synonymisations considérant certaines comme conspécifiques sont citées dans la littérature.

Les principales espèces morphologiquement proches de *P. coffeae* sont (annexe 2) :

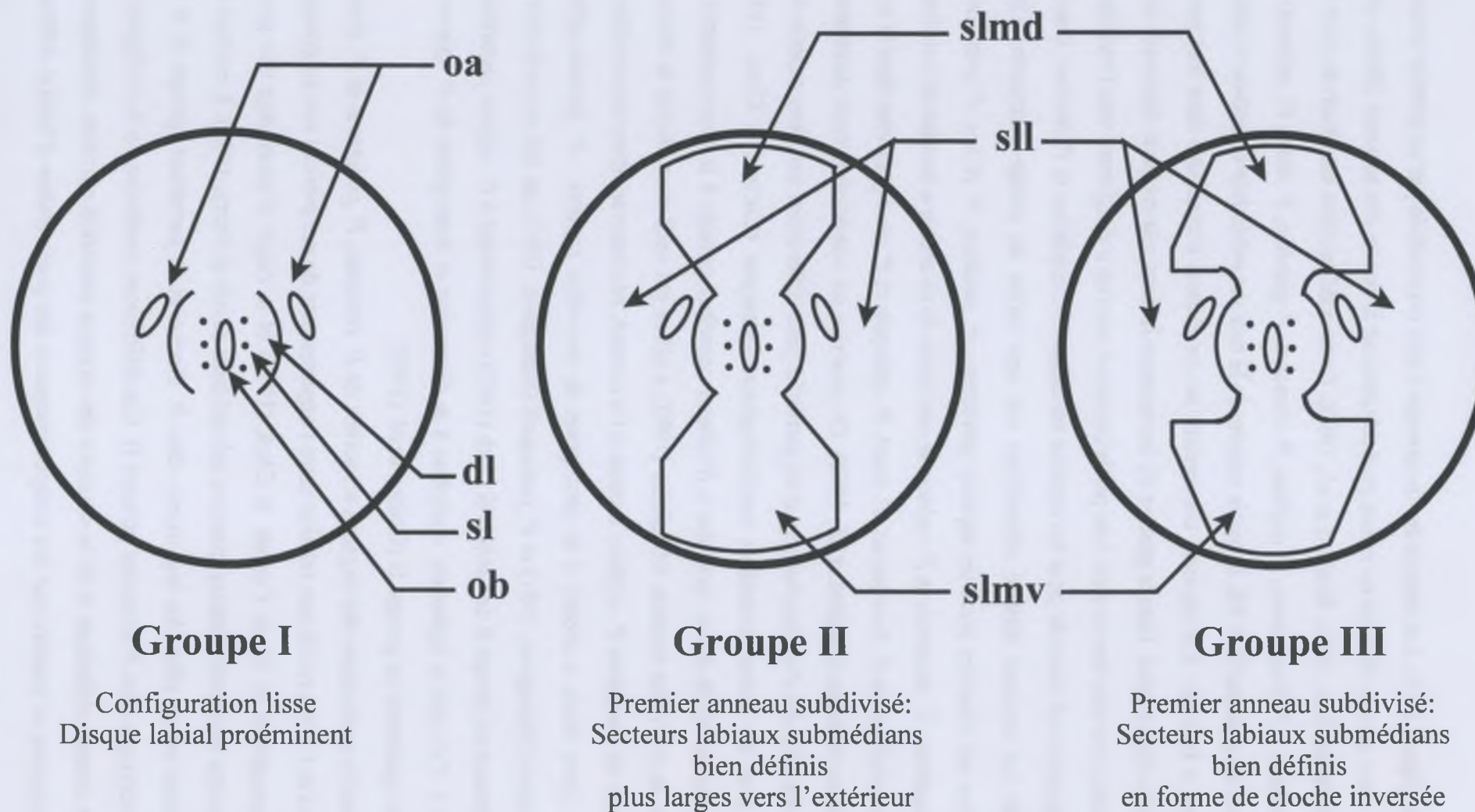
Espèce	Auteur, année	Hôte	Lieu géographique
<i>P. loosi</i>	Loof, 1960	<i>Camellia sinensis</i>	Sri Lanka
<i>P. alleni</i>	Ferris, 1961	<i>Glycine max</i>	Illinois, USA
<i>P. panamaensis</i>	Siddiqi <i>et al.</i> , 1991	<i>Coffea</i> sp.	Panama
<i>P. yamagutii</i>	Minagawa, 1991	<i>Weigela middendorffiana</i> <i>Alnus crispa maximowiczii</i>	Hokkaido, Japon
<i>P. gutierrezii</i>	Golden <i>et al.</i> , 1992	<i>Coffea arabica</i>	Alajuela, Costa Rica
<i>P. pseudocoffeae</i>	Mizukubo, 1992	<i>Chrysanthemum morifolium</i> <i>Artemisia feddei</i>	Miazaki, Japon Nagasaki, Japon

Depuis son introduction en nématologie, le microscope électronique à balayage (MEB) permettant des observations très détaillées de la morphologie, a été d'une grande aide pour la taxinomie (Hooper & Clark, 1980). Plus particulièrement pour le genre sténomorphique *Pratylenchus*, le MEB a permis d'obtenir d'importantes informations pour avancer dans la taxonomie du genre. Des études sur la région labiale de quelques *Pratylenchus* spp. ont été initiées par Corbett & Clark (1973) afin d'essayer de clarifier leur position taxinomique. La partie antérieure de différents Tylenchoidea dont douze populations appartenant à cinq espèces de *Pratylenchus* a ensuite été examinée (Sher & Bell, 1975). Ces auteurs ont pu observer des structures qui n'avaient jamais pu être observées auparavant, au microscope optique, comme la présence systématique de six papilles autour de l'orifice buccal chez les différents Pratylenchidae observés. Ils ont également observé la présence de subdivisions au niveau du premier anneau céphalique en secteurs labiaux sub-médians et latéraux chez *P. minyus* et *P. thornei*. En revanche une population non identifiée de *Pratylenchus* provenant de Californie présentait une capsule céphalique lisse. L'étude au microscope électronique à balayage de dix-huit espèces de *Pratylenchus* a permis à Corbett & Clark (1983) de proposer une classification de ces espèces selon trois groupes morphologiques d'après la configuration du premier anneau céphalique et du

disque labial (figure 1.13). Les nématodes du **groupe I** sont caractérisés par un premier anneau céphalique sans aucune division en raison probablement de la fusion des secteurs labiaux sub-médians et latéraux (Luc, 1987 ; Baujard *et al.*, 1990). Cette configuration est observée pour les espèces suivantes : *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. crenatus*, *P. goodeyi*, *P. loosi*, *P. sefaensis* et *P. zae*. Dans les **groupes II et III**, la partie externe de la face est subdivisée en secteurs labiaux sub-médians et latéraux. Ces derniers contiennent les ouvertures d'amphides dans leur partie interne près du disque labial. Dans le **groupe II**: les secteurs labiaux sub-médians, fusionnés avec le disque labial, sont plus étroits dans leur partie interne et vont en s'élargissant vers l'extérieur. Cette configuration est observée pour les espèces suivantes : *P. neglectus* et *P. thornei*. Dans le **groupe III**: les secteurs labiaux submédians ont une forme de cloche renversée. Cette configuration est observée pour les espèces suivantes : *P. andinus*, *P. fallax*, *P. penetrans*, *P. pinguicaudatus*, *P. pratensis* et *P. vulnus*. la constance de ce critère a ensuite été confirmée pour des populations de *P. brachyurus*, *P. loosi*, *P. sefaensis* et *P. zae* prélevées dans la zone sahélienne ouest africaine (Baujard *et al.*, 1990). Ce caractère est considéré comme déterminant pour l'identification des *Pratylenchus* spp. et en particulier pour différencier certaines espèces très similaires pour les autres caractères morphologiques classiques (Corbett & Clark, 1983). L'observation au MEB de ce caractère a d'ailleurs contribué ensuite à la reconnaissance et description de nouvelles espèces. Mizukubo (1992) a utilisé cet outil pour étudier la diversité phénotypique du complexe *P. coffeae*, comme il l'a nommé, en observant diverses populations du Japon. Cette étude a abouti à la description de nouvelles espèces : *P. pseudocoffeae*, *P. okinawaensis* (Minagawa, 1991) et *P. yamagutii* (Minagawa, 1991), du fait en particulier de leur appartenance au groupe II de Corbett & Clark (1983) contrairement à *P. coffeae* appartenant au groupe I. Cet outil a également contribué à la distinction et description de *P. gutierrezi* appartenant également au groupe II (Golden *et al.* (1992).

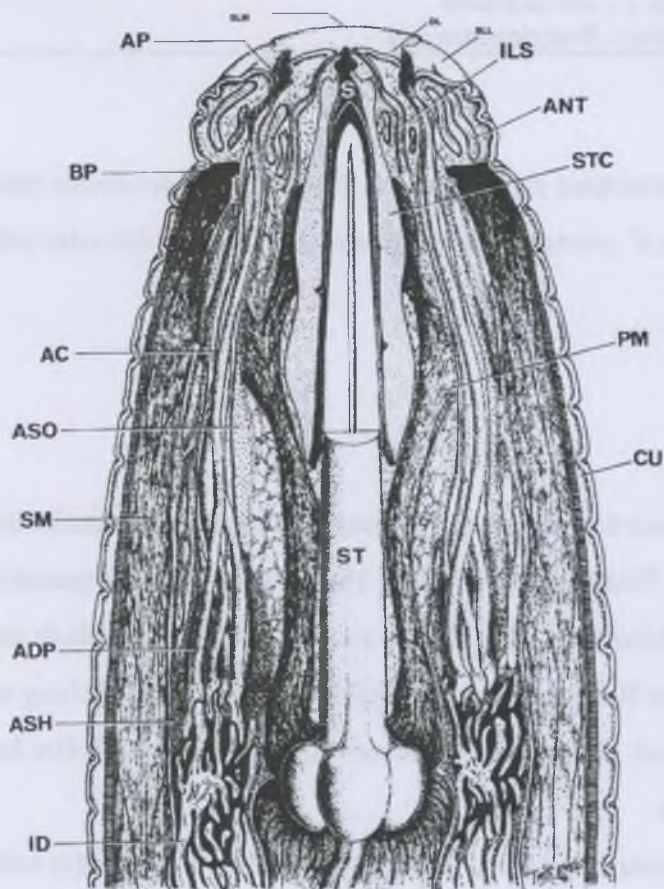
L'étude anatomique des organes sensoriels de *P. crenatus*, *P. penetrans* et *P. thornei* (figures 1.14 et 1.15) a révélé une relation entre l'appartenance de ces espèces soit au groupe I, soit aux groupes II et III de Corbett & Clark (1983) et le degré d'encerclage des procès céphaliques par les procès labiaux externes sub-médians (Trett & Perry, 1985). L'ectopie des procès labiaux est en effet plus importante chez *P. thornei* et *P. penetrans* (groupe II et III, respectivement) que chez *P. crenatus* (groupe I). Ces différences combinées de la configuration du premier anneau céphalique et de la structure des organes sensoriels externes céphaliques et labiaux pourraient se traduire par des comportements et des *preferendum* d'habitat différents





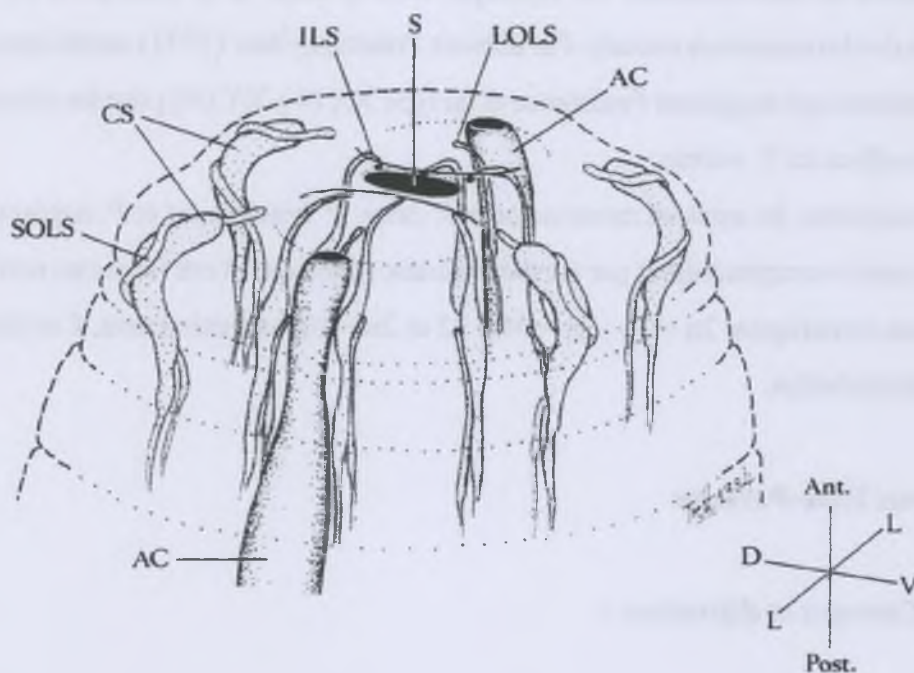
**Figure 1.13.** Groupes phénotypiques des *Pratylenchus* spp. définis par Corbett & Clark (1983) d'après la configuration du premier anneau céphalique. dl : disque labial ; oa : orifices des amphides ; ob : orifice buccal ; sl : sensilles labiales ; sl : secteurs labiaux latéraux ; slmd : secteur labial submédian dorsal ; slmv : secteur labial submédian ventral.





- AC : canal amphidien  
 ADP : procès dendritique amphidien  
 AP : ouverture d'amphide  
 ASH : Procès cellulaire du manchon amphidien  
 ASO : procès cellulaire de la cavité amphidienne  
 BP : plateau basal de la structure céphalique  
 CS : sensille céphalique  
 CU : cuticule  
 DL : disque labial  
 ID : dendrite  
 ILS : sensille labiale interne  
 LOLS : sensille labiale externe latérale  
 PM : cellules musculaires protractiles  
 S : orifice buccal  
 SLL : secteur labial submédian  
 SLM : secteur labial latéral  
 SOLS : sensille labiale externe sub-médiane  
 ST : stylet  
 STC : extension du vestibule

**Figure 1.14.** Diagramme de l'extrémité antérieure des espèces de *Pratylenchus* avec les sensilles amphidiennes (D'après Trett & Perry, 1985).



**Figure 1.15.** Schéma du système nerveux au niveau de la partie céphalique de *Pratylenchus* spp. (D'après Trett & Perry, 1985). Pour la légende voir figure 1.14.

(Trett & Perry, 1985). Ces auteurs font remarquer en effet que *P. thornei* et *P. penetrans* sont plus fréquents dans les sols lourds alors que *P. crenatus* est communément observé dans des sols légers.

## **2.7. Caractéristiques cytologiques**

C'est d'abord, du fait de l'insuffisance des critères morphométriques pour différencier les espèces au sein du genre *Meloidogyne* que Triantaphyllou (1962, 1963, 1966, 1969) a introduit la diversité cytologique dans les critères d'identification. Des travaux ont ensuite été réalisés sur diverses espèces du genre *Pratylenchus* par Roman et Triantaphyllou (1969) ainsi que Hung et Jenkins (1969) où le mode de reproduction et le nombre de chromosomes se sont avérés être les critères taxonomiques les plus intéressants:

- Les espèces bisexuelles *P. penetrans*, *P. vulnus* et *P. coffeae* (mâles fréquents) sont amphimictiques obligatoires et diploïdes avec un nombre de chromosomes somatique respectivement égal à:  $n = 5$  ;  $n = 6$  et  $n = 7$ . La variabilité du nombre de chromosomes observée d'une espèce à l'autre semble indiquer des changements importants au niveau des chromosomes durant l'évolution du genre *Pratylenchus* (Roman et Triantaphyllou, 1969). Selon ces mêmes auteurs, le nombre de chromosomes est identique chez le mâle et la femelle. Il n'y a pas eu reconnaissance de chromosomes sexuels. Par ailleurs Triantaphyllou (1971) mentionne quelques observations limitées qui suggèrent l'existence d'un type XX (♀)-XY (♂) pour les chromosomes sexuels de *P. coffeae* et *P. vulnus*.

- Pour mémoire, les espèces monosexuées *P. zaeae*, *P. brachyurus* et *P. neglectus* (mâles absents ou très rares) se reproduisent par parthénogénèse mitotique et ont toutes un nombre élevé de chromosomes somatiques:  $2n = 26$  ;  $2n = 30$  à  $32$  et  $2n = 20$  respectivement. Ces formes sont probablement polyploïdes.

## **2.8. Relations Hôte-Parasite**

### **2.8.1. Concepts et définitions :**

Il est difficile d'adapter aux endoparasites migrants comme *Pratylenchus* spp. à comportement alimentaire nécrotrophique, la terminologie habituellement utilisée dans les



relations hôte-parasite dont les concepts sont essentiellement élaborés à partir de pathosystèmes du domaine de la phytopathologie, parfois de la nématologie mais pour les nématodes endoparasites à comportement biotrophique.

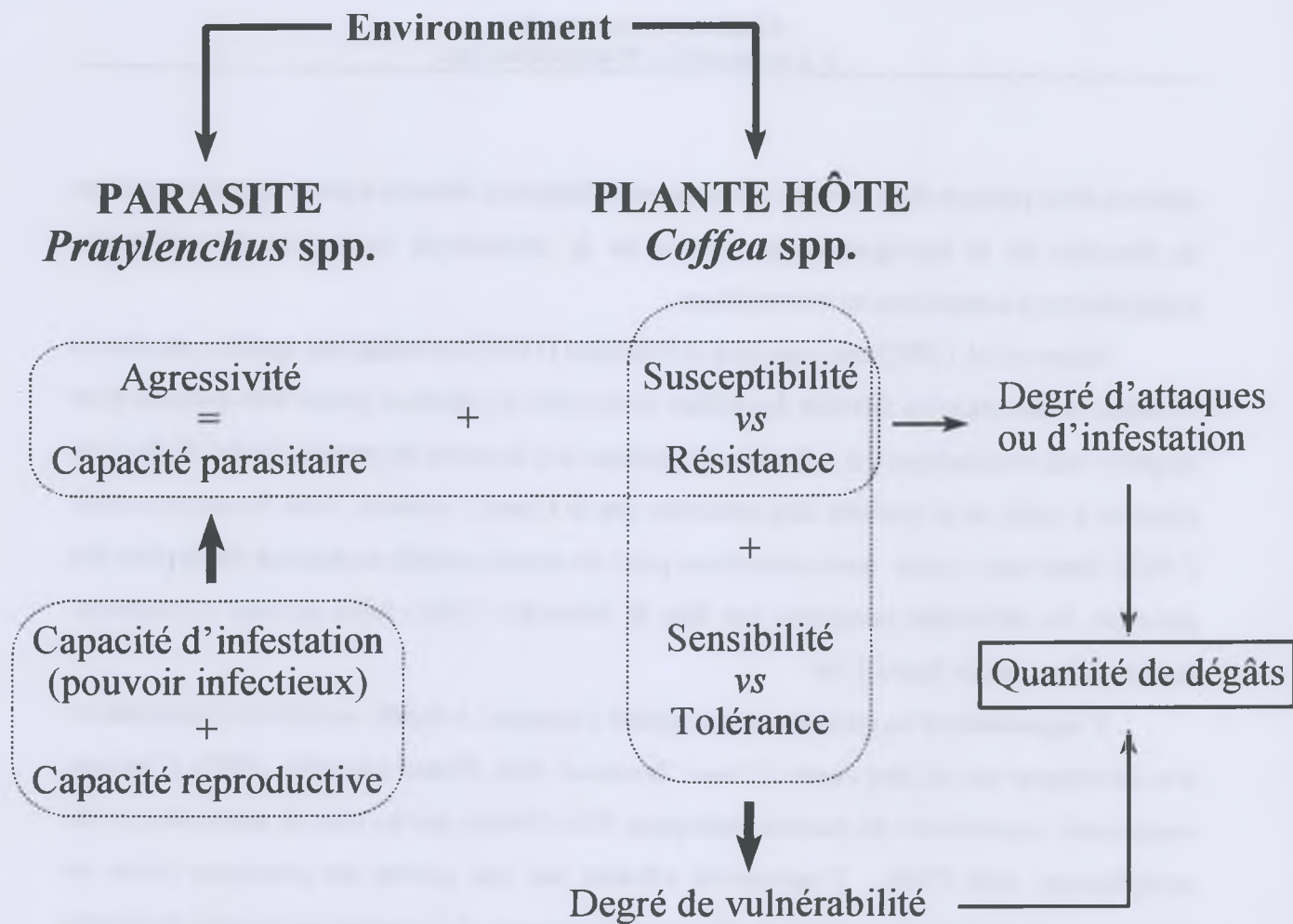
Shaner *et al.* (1992) ainsi que Bos & Parlevliet (1995) ont réalisé une synthèse des divers concepts utilisés dans les diverses disciplines concernant les relations plante hôte-parasite pour proposer une terminologie qui soit utilisable quelque soit la nature du parasite étudié. Celle ci est élaborée à partir de la synthèse déjà présentée par le *Comm. Terminol. Ned. Planteziektenkd.* (1985). Dans notre étude nous retiendrons pour les termes relatifs au pouvoir pathogène des parasites, les définitions proposées par Bos & Parlevliet (1995) telles qu'elles apparaissent schématisées dans la figure 1.16.

L'**agressivité** d'un parasite est sa capacité à attaquer, à établir une relation parasitaire et à se développer sur un hôte donné (*Comm. Terminol. Ned. Planteziektenkd.*, 1985). C'est une composante quantitative du pouvoir pathogène. Elle s'évalue par les taux de pénétration et de multiplication dans l'hôte. L'agressivité s'évalue sur une gamme de génotypes hôtes en déterminant la quantité de parasites se développant sur ceux ci, la gamme ou étendue de plantes hôtes et de populations hôtes attaquées ou infestés, et enfin la densité de population du pathogène sur les plantes hôtes et dans les cultures ou le nombre de plantes infestées. C'est ce que Shaner *et al.* (1992) ont défini comme la **capacité parasitaire** qui est influencée par la **capacité reproductive** du parasite sur un hôte donné et le **pouvoir pathogène spécifique** qui est défini comme son degré de compatibilité avec l'hôte ou une gamme d'hôtes.

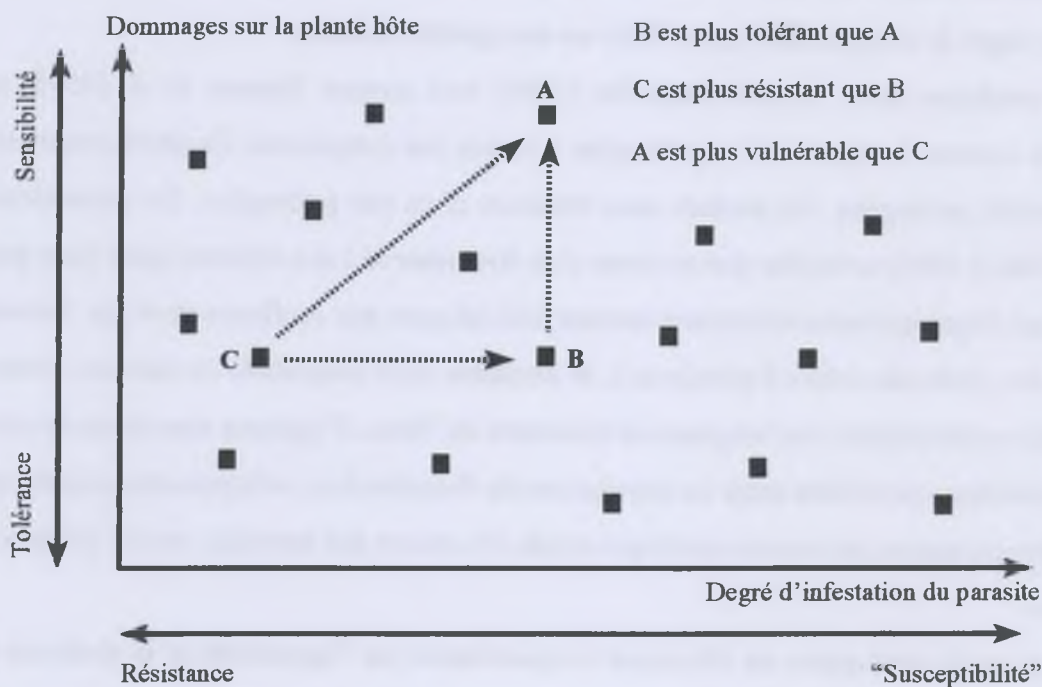
La **virulence** selon Bos & Parlevliet (1995) tout comme Shanner *et al.* (1992) est appréhendée comme la capacité d'un pathogène à causer des symptômes. Qualitativement, elle rend un parasite pathogène. Un parasite sans virulence n'est pas pathogène. En nématologie, Trudgill (1986 et 1991) considère que ce terme doit être réservé à des relations gène pour gène lorsqu'il s'agit d'endoparasites sédentaires comme *Meloidogyne* spp. ou *Heterodera* spp. Souvent portée par des gènes récessifs (d'avirulence), la virulence rend compatible ou non une relation parasite-hôte en interaction avec les gènes de résistance de l'hôte. S'agissant dans le cas de notre étude, de relations compatibles entre les populations de *Pratylenchus*, endoparasites migrants, et les caféiers où aucune résistance spécifique totale n'a encore été montrée, nous n'utiliserons pas ce terme.

Le **pouvoir pathogène** est déterminé conjointement par l'agressivité et la virulence du parasite. C'est la capacité (quantitative) à causer une maladie. Pour les raisons évoquées





**Figure 1.16.** Diagramme des relations hôte-parasite dans le cas de *Pratylenchus* sp.- *Coffea* sp. (D'après Bos & Parlevliet, 1995).



**Figure 1.17.** Diagramme représentant le concept de vulnérabilité d'une plante hôte vis à vis d'un parasite en fonction de son degré de "susceptibilité" vs résistance et de sensibilité vs tolérance vis à vis de ce même parasite (D'après Bos & Parlevliet, 1995).

précédemment, en l'absence de virulence, nous parlerons plutôt pour ce parasite nécrotrophe de capacité à produire des dégâts.

Concernant les termes qualifiant la plante-hôte (par rapport à un pathogène donné), nous retiendrons également les définitions de Bos et Parlevliet (1995) :

La “**susceptibilité**” (du terme anglo-saxon “susceptibility” traduit en français par le terme sensibilité qui est également utilisé pour traduire “sensitivity”) est le complexe de caractéristiques qui rendent un organisme apte à être hôte d'un parasite c'est-à-dire à permettre son développement (compatibilité de l'hôte vis à vis du parasite). A l'échelle macroscopique (concept), la “susceptibilité” est l'inverse de la résistance même si des mécanismes différents et indépendants peuvent exister pour chacune de ces composantes. La “susceptibilité” ne peut non plus être réduite à la définition de non-immunité selon les mêmes auteurs.

La **résistance** est la capacité d'un hôte à entraver le développement et l'activité d'un parasite (*Comm. Terminol. Ned. Planteziektenkd.*, 1985). La résistance tout comme la “susceptibilité” doit prendre en compte différents mécanismes à différentes étapes: la pénétration, l'établissement et la multiplication du parasite. Les phénomènes de résistance non spécifique, comme c'est souvent le cas avec les nématodes endoparasites migrateurs, sont dûs à des mécanismes de défense qui inhibent, restreignent, retardent ou altèrent le développement du nématode. Les mécanismes de résistance peuvent être considérés selon quatre catégories non exclusives (Dalmaso *et al.*, 1992) : (1) l'absence d'attractivité voire la possibilité de répulsivité pouvant conduire à une immunité ; (2) les barrières physiques: épiderme de la racine, parois cellulaire à l'intérieur de la racine (dépôts) ; (3) les défenses biochimiques constitutives qui sont des mécanismes passifs, c'est à dire qu'elles ne sont pas induites par le parasite mais sont présentes en permanence dans la plante ; (4) les mécanismes de résistance induits: production de phytoalexines, accroissement de la respiration cyanide, réactions d'hypersensibilité.

La **sensibilité** (= sensitivity) est définie comme la capacité à développer des symptômes en réaction à l'infestation d'un parasite (*Comm. Terminol. Ned. Planteziektenkd.*, 1985). Elle inclue les réductions de récolte.

La **tolérance** est l'aptitude d'un hôte à limiter les effets néfastes d'un parasite, d'un organisme phytophage ou d'un facteur abiotique (*Comm. Terminol. Ned. Planteziektenkd.*, 1985). Elle ne doit pas être confondue avec la résistance partielle ou incomplète. Selon Trudgill (1991), les différences de tolérance entre cultivars ou hôtes peuvent être évaluées en comparant les

réductions de croissance ou de production dues aux dégâts de nématodes lorsque les plants sont exposés à des infestations similaires de nématodes dans le sol. Pour notre étude, nous utiliserons plutôt le concept exposé par Bos & Parlevliet (1995) et nommé par Clarke (1986) la tolérance à l'attaque dans lequel on se réfère au degré d'attaque ou degré d'infestation, c'est à dire dans notre cas à la population de nématodes présente dans les racines au moment de l'évaluation des dommages (poids frais, récolte). Quel que soit le concept retenu, lorsque l'on compare les niveaux de tolérance de cultivars à croissance différente ou productivité différente, cela requière l'évaluation du poids frais ou de la production à des niveaux similaires d'infestation mais aussi en absence de nématodes (Trudgill, 1991). La tolérance peut s'évaluer en terme de production sous des densités données de nématodes (Rivoal *et al.*, 1991; Dalmasso *et al.*, 1992). Dans le cas de rotations culturales ou de renouvellement de plantations avec des géotypes différents, des plantes tolérantes mais non résistantes peuvent se transformer en "porteurs sains" qui permettent l'augmentation des densités de populations de nématodes (Dalmasso, 1992).

La "susceptibilité" *versus* la résistance de même que la sensibilité *versus* la tolérance sont des notions graduelles et non des termes absolus caractérisant les situations extrêmes d'une échelle continue (Bos & Parlevliet, 1995). On peut alors définir la **vulnérabilité** comme la résultante de ces deux échelles continues et qui est donc l'inaptitude d'une plante (ou d'un organisme) à résister aux attaques d'un parasite et à contrecarrer les effets de l'attaque (figure 1.17).

### **2.8.2. Diversité de la capacité parasitaire chez *Pratylenchus* spp..**

Pour ce qui est de la diversité intraspécifique que nous étudierons en relation avec sa capacité reproductive et parasitaire, nous utiliserons le terme de biotype défini comme unité de base caractérisée par sa capacité à se reproduire sur un seul hôte différentiel (Triantaphyllou, 1987) en accord avec les observations de Barker (1993). Ce terme biotype est d'ailleurs considéré par Triantaphyllou (1987) comme équivalent à celui de pathotype dont l'usage est recommandé par Dropkin (1988). Néanmoins pour les raisons évoquées pour le pouvoir pathogène nous lui préférons le terme de biotype.

La diversité intraspécifique du point de vue de la capacité parasitaire a été montrée chez différentes espèces de *Pratylenchus* en relation avec des origines géographiques différentes et/ou des plantes hôtes d'origine différentes. Des différences ont été observées entre populations



géographiques de *P. penetrans* pour leur capacité reproductive et leur capacité à causer des dégâts sur *Nicotiana tabacum* et *N. debneyi* (Olthof, 1968) et pour leur capacité reproductive sur *Solanum tuberosum* (France & Brodie, 1996). Chez *P. vulnus*, six isolats géographiques prélevés sur six hôtes différents ont montré des différences quant à leur capacité reproductive et leur capacité à causer des dégâts sur un hybride *Prunus persica* x *P. amygdalus* et un porte-greffe *Malus pumila* (Pinochet *et al.*, 1993). Différents travaux ont également été réalisés chez *P. coffeae*. Trois populations japonaises de *P. coffeae* ont montré des capacités reproductives différentes sur 15 cultivars appartenant à 14 espèces de plantes différentes (Mizukubo, 1995). Une étude réalisée en Inde a révélé d'une part que des plants d'*Elettaria cardamomum* ne pouvaient être infestés par une population de *P. coffeae* prélevée sur *C. arabica* et que d'autre part, des plants de *C. arabica* pouvaient être infestés par une population de *P. coffeae* prélevée sur *Elettaria cardamomum* mais sans que cette population puisse se multiplier (Kumar & Viswanathan, 1972). Ces deux populations prélevées sur deux hôtes différents ont montré de plus des capacités parasitaires différentes sur cinq autres hôtes : *Lycopersicon esculentum*, *Solanum tuberosum*, *Cajanus cajan*, *Cicer arietinum* et *Dolichos lablab*. Une étude similaire a également mis en évidence l'immunité de *C. arabica* vis à vis de deux populations de *P. coffeae* prélevées sur bananiers tandis que des bananiers (*Musa* AAA) cv Grande Naine étaient infestés par l'isolat Buena Vista prélevé sur *C. arabica* mais sans que ce nématode puisse se multiplier (Sarah & Pinochet, non publié). Il n'a pas été trouvé dans la littérature d'études sur la diversité de capacité parasitaire entre isolats géographiques de *P. coffeae* ou d'une autre espèce du même genre prélevés sur caféiers.

### 3. OBJECTIFS DE RECHERCHE

Il existe actuellement peu de programmes de recherche sur *Pratylenchus* qui concernent la culture des caféiers. Ce genre est en effet souvent considéré comme moins important que *Meloidogyne* mais on peut se demander s'il ne s'agit pas d'une mauvaise appréciation des dégâts dûs à ces nématodes dont les symptômes sont beaucoup moins spectaculaires et de fait moins reconnaissables. L'impact réel de ces nématodes sur *C. arabica* doit être évalué afin de confirmer ou infirmer les besoins de mettre en place des programmes de protection des caféiers contre ces nématodes.

La problématique d'identification d'un certain nombre d'espèces de *Pratylenchus* morphologiquement proches de *P. coffeae* avec le cas d'identifications controversées pour l'un des isolats de notre étude (cas de l'isolat Buena Vista) nous ont amener à envisager une possible diversité interspécifique et/ou intraspécifique qui n'aurait pas pu être décelée et pour laquelle il est important de définir comment elle se traduit en terme de pouvoir pathogène sur caféiers. C'est pourquoi, le premier volet du travail présenté ici, a consisté à caractériser quatre isolats géographiques de *Pratylenchus* en utilisant des marqueurs d'expression morphologiques mais aussi biologiques.

Nous nous sommes attachés en premier lieu à étudier la variabilité des caractères morphométriques à l'intérieur des populations et entre ces populations afin de voir si une discrimination totale de ces populations était possible à partir de ces descripteurs. Cette approche conduite au microscope optique a été complétée par des observations au microscope électronique à balayage, outil particulièrement utile pour des observations morphologiques précises des nématodes et en particulier pour la caractérisation des *Pratylenchus* spp. (Corbett & Clark, 1983 ; Baujard *et al.*, 1990).

Concernant les études biologiques sur les isolats, une première partie avait pour objectifs d'étudier le mode de reproduction des isolats (amphimictique / parthénogénétique) et de vérifier l'existence d'isolements sur le plan reproductif entre ces isolats. La seconde partie des ces études biologiques consistait à étudier la capacité reproductive des isolats en élevage monoxénique en fonction de la température. La troisième partie portait sur la capacité parasitaire en abordant les dynamiques de pénétration et de multiplication dans les racines de *Coffea arabica* et

*C. canephora* en conditions contrôlées. En effet des résistances partielles ont déjà observées chez *C. canephora* vis-à-vis de diverses populations de *Meloidogyne* spp. d'Amérique Centrale (Anzueto, 1993 ; Bertrand *et al.*, 2000). D'autre part, aucun facteur de résistance aux populations de *Pratylenchus* spp. d'Amérique Centrale n'a été démontré. Nous avons donc inclus certaines lignées ou cultivars de *C. canephora* dans cette étude pour caractériser les isolats et évaluer le niveau de résistance de ce matériel génétique.

Au delà de l'intérêt proprement phylogénique pour clarifier la taxinomie du complexe d'espèces morphologiquement proches de *P. coffeae*, ces études revêtent un intérêt agronomique considérable dans l'élaboration de diverses méthodes de lutte dans un contexte de protection intégrée contre ces populations de nématodes. Plus particulièrement, la connaissance de la diversité biologique au sein des populations de est bien sûr indispensable pour mener à bien des programmes de sélection de résistances à ces parasites.

Parallèlement, un second volet d'études a porté sur des approches bioécologiques en milieu réel, dans les plantations de caféiers du Guatemala. L'un des moyens de lutte les plus utilisés reste encore la lutte chimique dont les applications de nématicides sont souvent réalisées de façon empirique. Il est donc nécessaire d'acquérir des connaissances sur la bioécologie de ces parasites et en particulier sur les fluctuations de populations et les principaux facteurs qui les régulent afin de raisonner cette lutte chimique. Il faut ensuite évaluer la réelle efficacité de cette lutte chimique raisonnée qui présente tout de même un coût élevé ainsi qu'un impact élevé sur l'environnement. La pratique du greffage de *C. arabica* sur *C. canephora* largement diffusée au Guatemala est actuellement réalisée sur des porte-greffes non sélectionnés. Quel est l'effet de ces porte-greffes *canephora* sur les *Pratylenchus*? Existe-t-il chez ce matériel génétique des facteurs de résistance aux *Pratylenchus* ou s'agit-il de phénomènes de plus grande tolérance?

Une première étude visait d'une part à évaluer la capacité d'une population naturelle de *Pratylenchus* à causer des dégâts au champ sur *C. arabica*. D'autre part, ce travail avait pour objectif d'étudier l'influence comparée ou combinée des traitements nématicides et du greffage sur *C. canephora* sur les populations de ce parasite et sur les dommages occasionnés sur cette culture. Quelques observations sur l'effet de l'ombrage ont également pu être effectuées afin d'appréhender son éventuel rôle dans la protection intégrée contre ces nématodes.

Une seconde étude avait pour objectif d'étudier les fluctuations de populations en relation avec les facteurs climatiques et les rythmes phénologiques des caféiers, sur deux sites ; l'un se



trouvant à la limite inférieure et l'autre dans la partie supérieure de la frange d'altitudes de culture de *C. arabica* au Guatemala. Ces données devraient permettre d'optimiser les modalités de lutte contre ces parasites.

Ce sont autant de questions auxquelles il faut répondre pour jeter les bases d'une protection intégrée efficace contre les *Pratylenchus* en culture de *C. arabica*.

## Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

## **1. LES POPULATIONS ET ISOLATS DE *PRATYLENCHUS* SPP.**

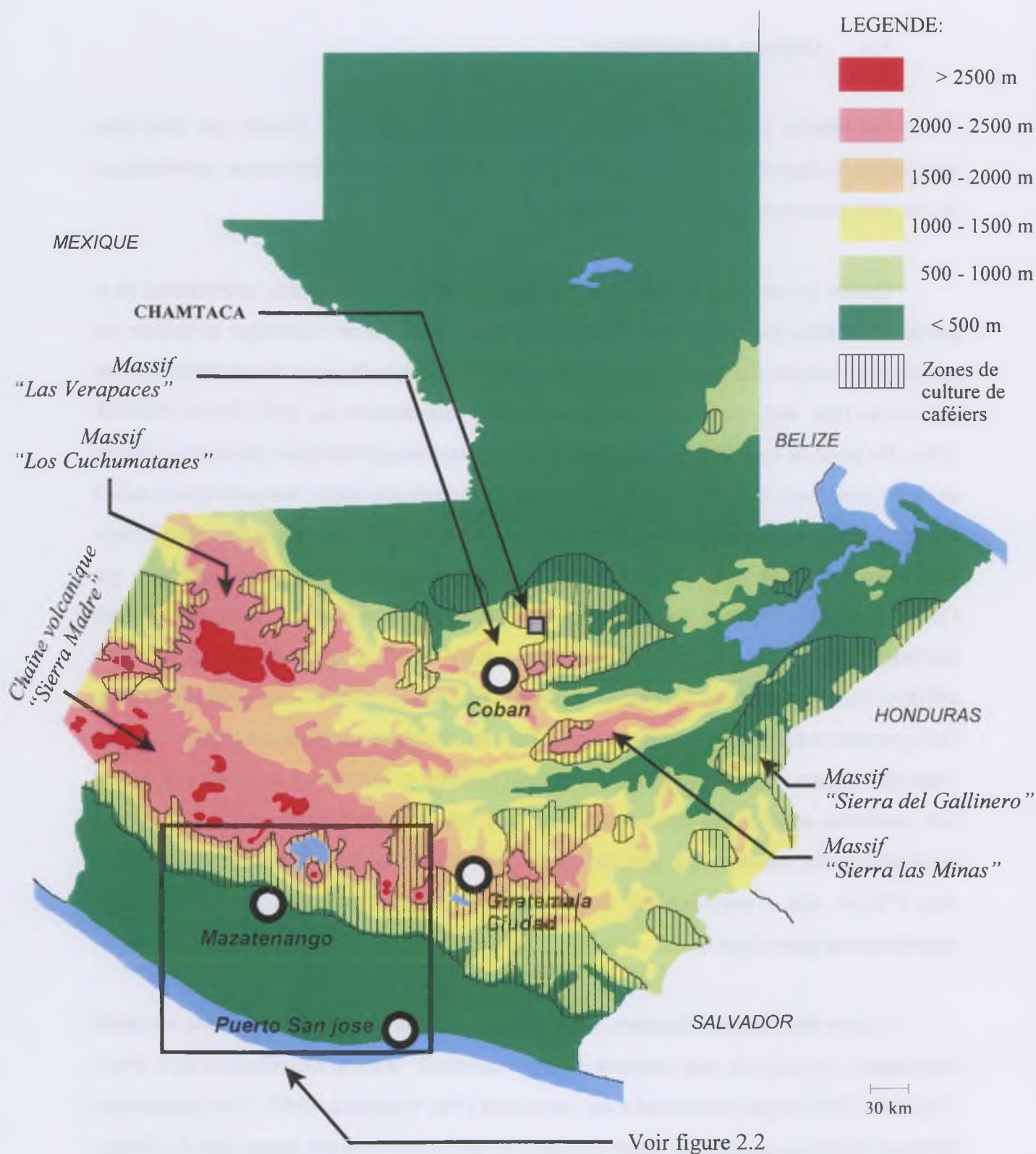
### **1.1. Origines géographiques**

Les études de populations et prélèvements d'isolats sont réalisés sur cinq sites géographiques (figures 2.1 et 2.2). Les principales caractéristiques écologiques et agronomiques de ces sites sont regroupées dans le tableau 2.1

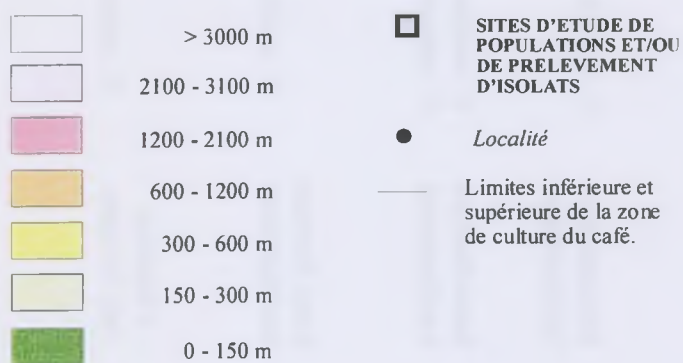
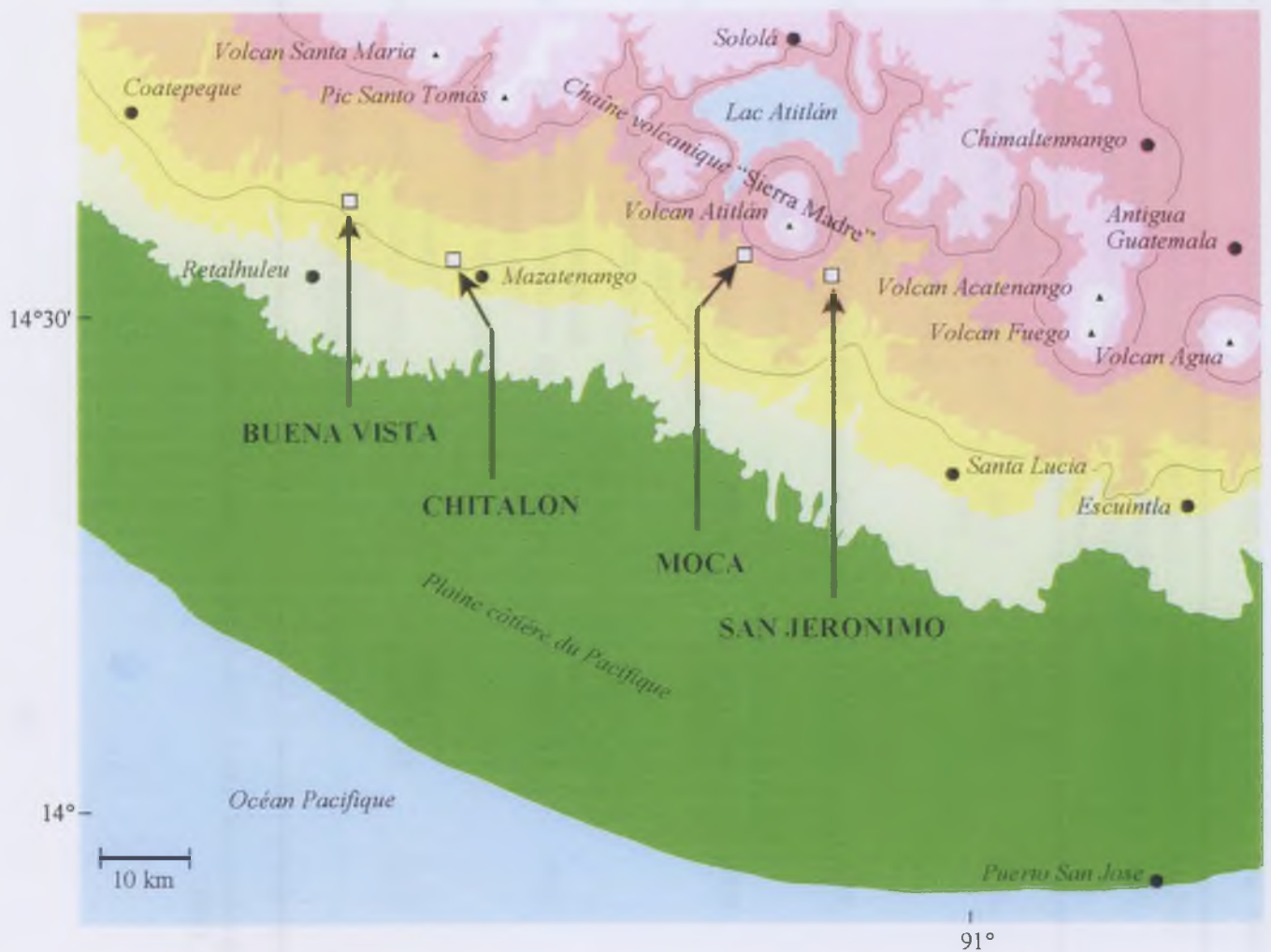
Quatre de ces sites: Buena Vista, Chitalon, Moca et San Jeronimo, proviennent de la partie occidentale du versant sud (versant Pacifique) de la chaîne volcanique principale qui traverse le Guatemala d'ouest en est. Cette région est caractérisée du point de vue édaphique par des sols de type andosols molliques (andosols vrais) (Simmons *et al.*, 1959; FAO-UNESCO, 1988). Du point de vue climatique, cette région se caractérise par une forte pluviosité (quantité annuelle supérieure à 3000 mm) et la présence d'une période sèche marquée (pluviométrie mensuelle généralement inférieure à 50 mm) durant 4 à 6 mois, de novembre-décembre à mars-avril selon l'année et l'altitude (annexe 3). La saison sèche est d'autant plus marquée que l'altitude est basse. De plus, il apparaît fréquemment entre juin et août une période de moindre pluviosité appelée localement "canicule". D'une durée de 6 à 8 semaines, elle est due à un affaiblissement des systèmes de dépression durant cette période. Elle est peu observable sur les histogrammes représentant le régime mensuel moyen des pluies sur plusieurs années car cette "canicule" est plus ou moins prononcée d'une année à l'autre et intervient à des dates différentes. Les variations saisonnières de températures sont peu marquées tandis que les variations nocturnes-diurnes sont beaucoup plus importantes et augmentent avec l'altitude (annexe 4). Les sites d'étude sont constituées par des parcelles de monoculture sous ombrage d'arbres appartenant au genre *Inga* sp.

L'autre site d'étude, Chamtaca, se situe dans une zone plus septentrionale sur un massif montagneux constitué de sols calcaires de type "cambisol" selon la classification de la FAO-UNESCO (1988) ce qui correspond à des inceptisols (Van Wambeke, 1995). Cette région sous influence atlantique possède un climat quelque peu différent à celui des autres sites. Ce dernier





**Figure 2.1.** Carte hypsométrique du Guatemala figurant les zones de culture de *C. arabica* et le site de prélèvement de l'isolat de *Pratylenchus* Chamtaca. Source : CIRAD/CA UR-FM 11/1994



**Figure 2.2.** Carte hypsométrique de la région du sud-ouest du Guatemala avec localisation des quatre sites d'étude de population *in situ* et/ou de prélèvement d'isolats de *Pratylenchus* sur le versant sud de la chaîne volcanique Sierra Madre du Guatemala.

**Tableau 2.1.** Principales caractéristiques écologiques des sites d'étude de population *in situ* et/ou de prélèvement d'isolats de *Pratylenchus*.

Site	Localité	Hôte	Altitude (m)	Températures**	Cumul de précipitations mm/an jours/an	Principales caractéristiques climatiques selon la classification de Thornwaite***	Type de Sol
Buena Vista	San Sebastian Reu Retalhuleu	<i>C. arabica</i>	450	16°C (Déc.) 36°C (Avr.)	3 500 155	Chaud Sans saison froide bien définie Très humide Saison sèche bien définie	Andosols
Chitalon	Mazatenango Suchitepequez	<i>C. canephora</i> *	400	16°C (Déc.) 36°C (Avr.)	3 400 150	Chaud Sans saison froide bien définie Très humide Saison sèche bien définie	Andosols
San Jeronimo	Santa Barbara Suchitepequez	<i>C. arabica</i> et <i>C. canephora</i> *	900	12°C (Déc.) 35°C (Avr.)	2 900 160	Modérément chaud Sans saison froide bien définie Très humide Saison sèche bien définie	Andosols
Moca	Santa Barbara Suchitepequez	<i>C. arabica</i>	1200	12°C (Déc.) 32°C (Jul.)	4 400 190	Modérément chaud Sans saison froide bien définie Très humide Saison sèche bien définie	Andosols
Chamtaca	Chamtacá Alta Verapaz	<i>C. arabica</i>	1250	7°C (Jan.) 33°C (Mai)	2 200 170	Tempéré Saison froide modérée Très humide Sans saison sèche bien définie	Inceptisols

\* *C. arabica* greffé sur *C. canephora*.

\*\* Moyennes des minima et maxima absolus de températures pour le mois le plus froid et le plus chaud respectivement.

\*\*\* Classification climatique de Thornwaite (in Anon., 1984)

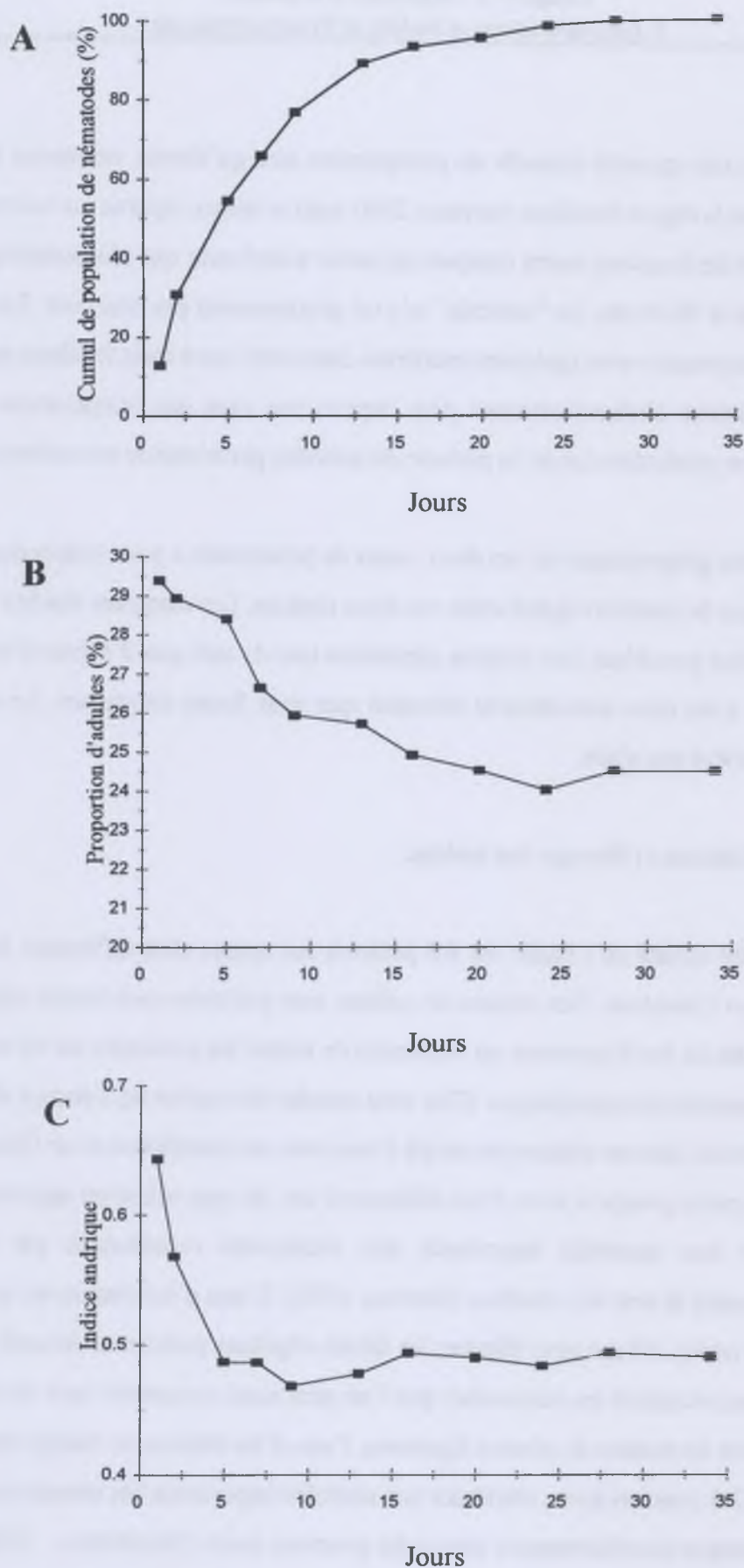


se caractérise par une quantité annuelle de précipitation bien qu'élévée, nettement inférieure à celle observée dans la région Pacifique (environ 2500 mm) et mieux répartie au cours de l'année avec une saison sèche beaucoup moins marquée de janvier à avril avec une pluviométrie mensuelle rarement inférieure à 70-80 mm. La "canicule" n'y est pratiquement pas observée. Les variations saisonnières de température sont également modérées dans cette zone mais le climat moins chaud montre des variations diurnes/nocturnes plus importantes avec des températures minimales absolues basses en particulier durant la période de moindre pluviosité de novembre à avril.

L'isolement géographique de ces deux zones de production a pour conséquence la quasi absence d'échanges de matériel végétal entre ces deux régions. Les cinq sites étudiés se trouvent sur des exploitations possédant leur propres pépinières tant de café que d'arbres d'ombrage. Le matériel végétal n'est donc actuellement introduit que sous forme de graines. Le substrat des pépinières est prélevé sur place.

## **1.2. Collecte et élevage des isolats.**

Les quatre isolats de l'étude ont été prélevés sur quatre sites différents: Buena Vista, Chitalon, Moca et Chamtaca. Des racines de caféiers sont prélevées puis lavées soigneusement au laboratoire afin de les débarrasser au maximum de toutes les particules de sol ainsi que des nématodes ectoparasites ou saprophages. Elles sont ensuite découpées en tronçons de 5 à 10 cm et mises en incubation dans un erlenmeyer rempli d'eau avec une insufflation d'air (Hooper, 1986) au moyen d'une petite pompe à air et d'un diffuseur d'air, du type utilisé en aquariophilie. Cela permet d'éviter une mortalité importante des nématodes occasionnée par le manque d'oxygénation auquel ils sont très sensibles (Norton, 1978). L'eau d'incubation est passée sur un premier tamis de maille 150  $\mu$ m pour éliminer les débris végétaux puis sur un second tamis de 25  $\mu$ m sur lequel sont récupérés les nématodes que l'on peut ainsi concentrer dans un petit volume d'eau. S'agissant de racines de plantes ligneuses, l'eau d'incubation se charge rapidement en tanins durant les 2-3 premiers jours, entraînant une mortalité importante des nématodes. Cette eau doit donc être changée quotidiennement durant les premiers jours d'incubation. Différents tests nous ont permis de déterminer que plus de 90% des nématodes récupérés le sont durant les 15 premiers jours (figure 2.3).



**Figure 2.3.** Courbes de récupération de *Pratylenchus* (population de Buena Vista) au cours du temps par incubation de racines de *Coffea arabica* dans l'eau avec oxygénation par insufflation d'air. **A** : Cumul des pourcentages d'effectifs totaux de nématodes récupérés, tous stades confondus ; **B** : Proportion (%) d'adultes dans la population récupérée ; **C** : Indice andrique de la population cumulée.

Le sex-ratio (rapport  $\sigma/\varphi$ ) des individus récupérés est d'environ 0,65 le premier jour d'incubation et diminue pour se stabiliser autour de 0,50. Cependant, la valeur moyenne rencontrée dans les extractions par centrifugation-flottation, (méthode a priori non préférentielle vis à vis des sexes et stades) montre en général des valeurs plus faibles. Il semble donc que dans ces conditions, les mâles ont une plus grande capacité à émigrer des racines et de façon plus rapide que les femelles.

La proportion d'adultes dans la population totale d'individus extraits est, le premier jour d'incubation, d'environ 30%, proportion généralement observée également avec la méthodes d'extraction par centrifugation-flottation. Cette proportion diminue ensuite pour se stabiliser autour d'environ 25%. Cette diminution de la proportion d'adultes dans la population de nématodes extraits pourrait s'expliquer par une plus grande capacité des juvéniles à sortir des racines et/ou par l'éclosion d'oeufs contenus dans les racines.

Après concentration de la suspension de nématodes par sédimentation, les individus les plus actifs (adultes, mâles et femelles) sont pêchés individuellement sous loupe binoculaire puis observés sous microscope par groupe de dix pour s'assurer qu'il s'agit bien d'individus de *Pratylenchus*. Une centaine de nématodes est ainsi récupérée et inoculée sur un disque de carottes afin de constituer un élevage monoxénique *in vitro* selon une technique modifiée de O'Bannon & Taylor (1968) (annexe 5). Les descendance obtenues des quatre premiers flacons d'élevage sont réunies et inoculées à nouveau sur disques de carottes pour constituer l'élevage définitif de chaque isolat.

## **2. ETUDE MORPHO-ANATOMIQUE DE QUATRE ISOLATS DE *PRATYLENCHUS* SPP.**

### **2.1 Fixation des nématodes**

Les nématodes des quatre isolats Moca, Buena Vista, Chamtaca et Chitalon, sont récupérés après élevage durant 11 mois sur rondelles de carottes *in vitro*. Les rondelles de carotte du flacon d'élevage sont découpées au scalpel et déposées sur un tamis (maille de 1 mm) recouvert d'une triple épaisseur de mouchoirs de cellulose dans le but d'éliminer les impuretés qui pourraient gêner ensuite l'observation. Le tamis est déposé durant 12 heures dans des récipients propres contenant de l'eau distillée qui est oxygénée par insufflation d'air. La



suspension de nématodes est ensuite récupérée et mise à décanter dans un tube à hémolyse durant 2 h. Le surnageant est éliminé pour ramener le volume de la suspension à environ 3 ml. Pour tuer les nématodes, le tube contenant le reste de suspension est plongé pendant 30 secondes dans un bain-marie préalablement porté à ébullition. Cette méthode permet l'acquisition par les nématodes de leur *habitus* "normal" (Baujard, 1987). Pour chacun des isolats, des individus des deux sexes sont ensuite pêchés séparément pour être déposés dans des micro tubes Eppendorf® contenant une solution fixatrice, froide, aqueuse de formol à 4% (Courtney *et al.*, 1955), neutralisée avec une solution à 1% de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (pH = 7) afin d'éviter l'aspect granuleux des spécimens causé par les acides formiques libres (Hooper, 1986). La fixation des nématodes dans cette solution doit se faire durant au moins 7 jours avant de procéder à toute autre préparation pour leur montage et observation au microscope.

## 2.2. Préparation et observation des nématodes au microscope optique.

Pour chaque isolat, 50 mâles et 50 femelles sont pêchés séparément dans la suspension de nématodes fixés et transférés dans deux piluliers. La méthode de montage à la glycérine (Seinhorst, 1959) simplifiée (Baujard, non publié) est appliquée afin d'obtenir des montages permanents des spécimens étudiés. Après avoir aspiré la majeure partie du liquide fixateur contenue dans les piluliers, ceux-ci sont ensuite placés dans un dessiccateur à éthanol maintenu à une température de 45°C. Lorsque les piluliers sont pleins (24 heures après dans le cas présent) l'eau est alors entièrement remplacée par l'éthanol. Un mélange 95-5% d'éthanol-glycérine est alors ajouté. Quarante huit heures après, les nématodes sont prêts pour être montés.

Un anneau de paraffine est déposé sur une lame à l'aide d'un tube à hémolyse dont l'embout est préchauffé à la flamme. Une goutte calibrée de glycérine anhydre est placée à l'aide d'une seringue au centre de l'anneau de paraffine. Les nématodes sont alors pêchés et déposés dans la goutte de glycérine (on ne dispose qu'une dizaine de nématodes par lame pour éviter le chevauchement des spécimens). Une lamelle est ensuite déposée au dessus. Le tout est placé sur une platine chauffante pour faire fondre le bourrelet de paraffine. La lame est ôtée de la plaque chauffante pour laisser la paraffine refroidir et durcir.

Les nématodes sont ensuite observés sous un microscope optique (Olympus® BH2) équipé d'une chambre claire. Pour mesurer la longueur des individus ainsi que la position de la vulve, le profil des spécimens est tout d'abord dessiné à l'aide de la chambre claire et à un grossissement de x 500. Les mesures sont ensuite effectuées sur le croquis à l'aide d'un curvimètre. Les autres mesures sont réalisées directement au micromètre oculaire avec un objectif à immersion (x 100) permettant un grossissement de x 1500. Certains spécimens en position dorsale ou ventrale présentant une courbure de corps trop importante en particulier au niveau de la queue sont écartés de l'observation car les mesures ne peuvent être réalisées de manière fiable.

L'ensemble des critères morpho-biométriques décrits par Loof (1991) ont été mesurés sur les femelle des trois isolats de *Pratylenchus* (tableau 2.2 et annexe 6).

Une analyse factorielle discriminante (AFD) est effectuée sur les différents descripteurs morphométriques des trois isolats à l'aide du logiciel STATITCF. Cette AFD permet la construction de deux axes factoriels discriminants (variables canoniques), combinaisons linéaires des variables morphométriques initiales définissant le plan de représentation des individus appartenant aux trois isolats.

Une seconde AFD est réalisée en introduisant comme individus supplémentaires les données moyennes de différentes populations étudiées par différents auteurs afin de les comparer par rapport aux isolats de notre étude. Ces individus supplémentaires ne participent pas à la construction des axes factoriels discriminants. Ces populations sont les suivantes :

- Population paratype de *P. gutierrezi* (n = 30 ; hôte = *Coffea arabica*) (Golden *et al.*, 1992).
- Deux populations paratypes de *P. pseudocoffeae*: "Miazaki" (n = 40, hôte = *Chrysanthemum morifolium*) et "Nagazaki" (n = 10 ; hôte = *Artemisia feddei*); décrites par Mizukubo (1992, a, b).
- Trois populations de *P. coffeae*: "Nagano" (n = 20; hôte = *Zea mays*) et "Okinawa" (n = 25; hôte = *Bambusa* sp.) et "Saitama" (n = 21 ; hôte = *Ipomoea batatas* et *Oriza sativa*) (Mizukubo, 1992, a).
- Deux isolats (n = 20) initialement supposés appartenir à *P. gutierrezi*, prélevées sur *C. arabica* au Costa Rica (meseta central) et au Guatemala (= isolat Buena Vista) et

**Tableau 2.2.** Observations morpho-biométriques proposées par Loof (1991) et appliquées aux femelles des trois isolats de *Pratylenchus*.

Abréviations	Définition du descripteur
L	longueur du corps
a*	longueur du corps ÷ plus grand diamètre du corps (en avant de la vulve)
b*	longueur du corps ÷ distance de l'extrémité antérieure à la limite oesophage-intestin
b'*	longueur du corps ÷ distance de l'extrémité antérieure à l'extrémité distale des glandes oesophagiennes
c*	longueur du corps ÷ longueur de la queue
c'*	longueur de la queue ÷ diamètre du corps au niveau de l'anus
V*	position de la vulve: (distance de l'extrémité antérieure à la vulve ÷ longueur du corps) x 100
STY	longueur du stylet
DGO	distance de la base du stylet au débouche de la glande oesophagienne dorsale
NAQ	nombre d'anneaux de la queue mesuré sur la face ventrale
SPV	longueur du sac post-vulvaire
LQ	longueur de la queue
OI	distance de l'extrémité antérieure à la limite oesophage-intestin
GLA	distance de l'extrémité antérieure à l'extrémité distale des glandes oesophagiennes
HZD	distance de l'extrémité antérieure à l'hémizonide
HZN	distance de l'extrémité antérieure à l'hémizonion
PEX	distance de l'extrémité antérieure au pore excréteur
DAV	Diamètre du corps en avant de la vulve
DNA	diamètre du corps au niveau de l'anus
-	présence / absence de spermathèque
-	spermathèque vide ou pleine
-	forme de la spermathèque

\*: indices de deMan (1880)



élevées sur rondelles de carottes (Inserra *et al.*, 1998) mais dont ce statut taxinomique est remis en question par Duncan *et al.* (1999) après analyse multivariée des paramètres morphométriques et surtout d'une analyse génomique.

- Deux populations (n = 20) de *P. gutierrezii* directement prélevées sur *C. arabica* au Costa Rica (Duncan *et al.*, 1999). L'une est une population topotype. L'autre correspond à la population de laquelle a été prélevé l'isolat mentionné précédemment et élevé sur rondelles de carottes.

- Deux populations (n = 20) de *P. coffeae* prélevées sur *Coffea* sp. en Indonésie (Est de Java = localité type de *P. coffeae* Zimmermann, 1898) et au Brésil (n = 20) (Duncan *et al.*, 1999). La population du Brésil pourrait appartenir à une espèce différente non décrite selon ces mêmes auteurs.

- Des individus (n = 7) de collection prélevés par Sher & Allen (1953) sur *Coffea* sp. à Java et définis comme néotype de *P. coffeae* et observés par Inserra *et al.* (1998) et Duncan *et al.* (1999). Son statut taxinomique a également été remis en question par ces derniers auteurs.

Les données des holotypes ne sont pas été prises en compte car une révision détaillée de leurs caractéristiques morphométriques a montré qu'ils ne sont pas représentatifs des paratypes de la plupart des espèces ici considérées. Ce sont donc les moyennes de chaque descripteur disponible qui ont été calculées pour chacune des populations paratypes. Les variables disponibles pour toutes ces populations sont : la longueur du stylet, sty ; la longueur totale, L et les ratio, V, a, b et c.

Pour les mâles des trois isolats de *Pratylenchus*, seule la longueur du corps a été mesurée. Afin de comparer la longueur des mâles des trois isolats de l'étude avec celle observée chez d'autres espèces morphologiquement proches : *P. pseudocoffeae*, *P. gutierrezii*, *P. coffeae* et *P. loosi*, seule une comparaison graphique a pu être réalisée puisque seules les moyennes avec les écarts types et/ou les valeurs extrêmes étaient disponibles pour ces espèces. Une représentation en boîtes de Box est réalisée à cette fin.

Par ailleurs différentes observations morpho-anatomiques des femelles de *Pratylenchus* sont réalisées au microscope optique.

La forme générale de la partie postérieure des femelles ainsi que leur extrémité distale sont décrites en se basant sur la nomenclature établie par Tarjan & Frederick (1989) (annexe 7).

La présence ou absence de spermathèque est vérifiée. Si elle est présente, on observe son contour afin de déterminer sa forme générale : sphérique, ovale ou rectangulaire. Pour chaque spermathèque on calcule le rapport moyen du plus grand rayon (longueur dans la direction du corps) et du plus petit rayon (largeur, perpendiculairement à la direction du corps). Le contenu des spermathèques est également révisé pour déterminer si elles sont pleines.

### **2.3. Préparation et observation des nématodes au microscope électronique à balayage (MEB).**

Pour cette étude, les nématodes ont été fixés, uniquement pour des raisons de conservation et de facilité de transport des nématodes avant de pouvoir les observer au MEB puisque cette opération n'est pas nécessaire avant de procéder à leur déshydratation (Baujard & Pariselle, 1987). Les échantillons sont ensuite préparés selon la méthode Baujard & Pariselle (1987). Les nématodes sont pêchés et déposés sur des micro-tamis de toile nylon à maille de 5  $\mu\text{m}$  baignant dans de l'eau distillée. Ces micro-tamis sont ensuite fermés par une autre maille identique de 5  $\mu\text{m}$  et placés dans des tubes à hémolyse avec 1 ml d'eau distillée (annexe 8). Afin de procéder à leur déshydratation à l'acétone pure, les tubes à hémolyse sont à leur tour déposés dans un dessiccateur dans lequel est fait le vide, jusqu'à ébullition de l'acétone. Le processus de déshydratation est poursuivi jusqu'à ce que le liquide soit remonté dans les tubes à hémolyse soit huit jours après dans le cas présent. Une cinquantaine d'individus femelles et mâles sont ainsi préparés.

Une fine pellicule d'adhésif (3M®) est appliquée en spray sur un portoir métallique. Un poil de pinceau est ensuite disposé en travers du portoir (annexe 9). Vingt nématodes sont alors placés sur le portoir sous loupe binoculaire, de telle manière que l'une des deux extrémités du nématode (on ne peut alors distinguer sous loupe binoculaire la partie antérieure de la partie postérieure de l'animal) soit "à cheval" sur le poil de pinceau. Cette opération permet d'obtenir un angle d'environ 45° de la tête par rapport à la surface du portoir. Il est ainsi possible d'avoir des vues frontales du premier anneau céphalique des nématodes malgré la limite de rotation du portoir à 45° dans la colonne du microscope. Vingt autres nématodes sont disposés à plat sur le

même portoir. Après passage au point critique, (Emitech® K850), les spécimens sont métallisés durant 30 secondes à 30 mA sous atmosphère d'argon (Jeol® JFC-1200). Enfin les observations sont faites au microscope électronique à balayage Jeol® JSM-840 sous une accélération de 10 kV.

### **3. CARACTÉRISATION BIOLOGIQUE DE TROIS ISOLATS DE PRATYLENCHUS SPP.**

#### **3.1. Etudes sur la reproduction des isolats de *Pratylenchus***

Ces études sont réalisées en multipliant les nématodes selon la même technique d'élevage monoxénique sur disques de carottes *in vitro*. Cependant ce ne sont plus des flacons avec agar qui sont utilisés mais des mini-boîtes de Petri stériles de 55 mm de diamètre et 14 mm de hauteur dans lesquelles sont placées des disques de carottes stérilisés, de 10 mm de diamètre et environ 5 mm d'épaisseur (annexe 5). Ceux ci sont placés directement sur le fond des boîtes sans dépôt de couche de gélose. Les disques de carottes fraîchement coupés et disposés immédiatement dans la boîtes avant qu'ils ne se déshydratent permettent de maintenir une humidité suffisante durant toute la durée de l'expérimentation. Il est important que les boîtes de Petri soient correctement scellées avec une bande de cellophane (Parafilm M®) afin d'éviter la déshydratation des disques de carottes qui peut intervenir très vite en l'absence de gélose, si le milieu n'est pas confiné.

##### **3.1.1. Etude du mode de reproduction de chaque isolat**

Toutes les étapes suivantes sont réalisées en conditions stériles sous hotte à flux laminaire.

Dans chaque boîte de Petri, préparée comme précédemment décrit, une petite goutte d'eau distillée et stérile est déposée sur le disque de carotte dans le but de recevoir ensuite l'inoculum de nématodes .

Pour chacun des trois isolats étudiés : Chitalon, Chamtaca et Moca; des nématodes sont prélevés sur les parois d'un flacon d'élevage et désinfectés selon le procédé déjà décrit (annexe 5). Ces nématodes désinfectés sont placés dans une "salière". Des néonates (juvéniles au 2<sup>ème</sup> stade facilement reconnaissables par leur petite taille) sont pêchés sous loupe binoculaire puis



inoculés avec la même “canne” (poil de pinceau fixé sur un manche) dans les gouttes préalablement déposées sur les disques de carotte. Pour chaque néonate inoculé, on vérifie sous loupe binoculaire que celui ci n’est plus sur la canne et a donc bien été déposé dans la goutte d’eau.

Chaque boîte de Petri est ensuite scellée avec précaution (afin que la goutte d’eau ne tombe pas de la rondelle de carotte) à l’aide d’une bande de cellophane en faisant trois tours afin d’éviter toute déshydratation ultérieure. Celles ci sont laissées sous la hotte durant 2 heures, le temps que les gouttes contenant les inoculum de nématodes soient absorbées par les disques de carottes. Les boîtes de Petri peuvent alors être manipulées sans risques et sont disposées dans une cellule réglée à 27°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ), à l’obscurité.

Les inoculations réalisées pour chacun des trois isolats: Chitalon, Moca et Chamtaca, apparaissent dans le (tableau 2.3). Pour chacun des trois isolats: des néonates uniques sont inoculés pour détecter une éventuelle reproduction par parthénogénèse et des paires et/ou des groupes de dix néonates sont inoculés pour vérifier la viabilité de l’inoculum.

Quatorze semaines après inoculation, on procède à l’extraction des nématodes. Dans chaque boîte de Petri, le disque de carotte est découpé à l’aide de pinces fines et d’un bistouri, en fines lamelles que l’on place dans un tube à essai de 50 ml. On complète à environ 20 ml, le volume d’eau des tubes à essai contenant déjà les lamelles de carotte et l’eau de rinçage des instruments (bistouri et pinces) et de la boîte de Petri. Une insufflation d’air (oxygénation) est réalisé durant 72 heures à l’aide de micro-pipettes pasteur connectées à une pompe à air. Le volume d’eau des tubes à essai est ensuite complété à 25 ml desquels une aliquote de 1 ml est prélevée (après forte agitation du tube) pour réaliser le dénombrement des nématodes (mâles, femelles, larves et oeufs) sous microscope avec une lame de comptage. Jusqu’à trois aliquotes sont observées par tube lorsqu’aucun nématode n’est décelé.

### **3.1.2. Etude sur la reproduction inter-isolats**

La même méthodologie antérieurement décrite est appliquée pour les tentatives de croisements inter-isolats. Des paire de néonates ont été inoculées combinant un individu

**Tableau 2.3.** Liste des inoculations pures ou croisées réalisées avec des néonates (juvéniles de 2ème stade) de trois isolats de *Pratylenchus*.

Isolats inoculés	Inoculum : nombre de néonates	Nombre de répétitions (boîtes de Petri)
Moca	1	20
	2	23
	10	6
Chitalon	1	20
	2	19
	10	2
Chamtaca	1	20
	2	---
	10	2
Moca x Chitalon	1 + 1	10
Chitalon x Chamtaca	1 + 1	10

appartenant à l'isolat Chitalon et un individu appartenant soit à l'isolat Moca, soit à l'isolat Chamtaca. Chacun des deux croisements Chitalon x Moca et Chitalon x Chamtaca est répété dix fois (tableau 2.3).

Quatorze semaines après inoculation, la même méthode d'extraction et de comptage des nématodes est appliquée dans le cas de inoculums inter-isolats.

### **3.1.3. Capacité reproductive sur disques de carottes *in vitro* en fonction de la température**

Pour chacun des trois isolats, dix boîtes de Petri préparées comme précédemment décrit, sont inoculées avec 50 individus (adultes et juvéniles) préalablement désinfectés (annexe 5) puis placés à 24, 27 et 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ). Les nématodes sont extraits en découpant tout d'abord les disques de carotte en fines lamelles. Celles ci sont ensuite disposées durant 5 jours dans un système d'incubation constitué d'une maille fine fixée sur un tamis de maille de 2 mm avec insufflation d'air (annexe 10). Deux comptages de nématodes (adultes et juvéniles) sont réalisés, 40 et 65 jours après inoculation. Ce système d'incubation permet d'obtenir une suspension de nématodes libres de débris de carottes même pour les rondelles plus âgées, prélevées 65 jours après inoculation.

Les données de populations de nématodes sont transformées en  $\log [x+1]$  pour homogénéiser les variances et pouvoir réaliser l'analyse de variance. Celle ci est réalisée pour chacune des deux dates selon un modèle factoriel croisé: isolat x température. Les moyennes sont séparées par le test de Newman et Keuls ( $P \leq 0,05$ ). Ces analyses sont effectuées à l'aide du logiciel STATITCF.

L'indice andrique ainsi que la proportion d'oeufs et de juvéniles dans la population sont calculés pour les populations obtenues à 40 et 65 jours. Les populations observées dans certaines répétitions présentent des effectifs faibles et de ce fait les valeurs calculées de ces deux paramètres, indice andrique et proportions d'oeufs et de juvéniles, sont peu représentatives. Une valeur moyenne de chaque paramètre est donc calculée pour chaque combinaison isolat - température en prenant en compte l'ensemble des individus (oeufs, juvéniles, mâles et femelles) dénombrés sur les différentes répétitions à 45 et 65 jours après inoculation. Il n'y a donc pas d'analyse de variance. Seule une comparative graphique des résultats.



### **3.2. Etude comparée des relations hôte-parasite des isolats de *Pratylenchus* sur *C. arabica* et *C. canephora*.**

#### **3.2.1. Dynamique de pénétration des isolats dans les racines de caféiers.**

##### **3.2.1.1. Matériel végétal**

Les deux matériels végétaux utilisés pour cette étude sont:

- Pour l'espèce, *C. arabica*, le cultivar Catuai a été choisi pour sa grande diffusion auprès des caféiculteurs ainsi que pour sa sensibilité à la plupart des nématodes parasitant les caféiers et son utilisation fréquente dans les tests de résistance de *Coffea* spp. aux nématodes (Anzueto, 1993 ; Hernandez, 1997 ; voir chapitre 1 § 1.5.2).

- Pour l'espèce *C. canephora*, c'est la variété porte-greffe hybride F1 Nemaya qui a été utilisée. Il s'agit d'un croisement entre les deux clones de cultivar Robusta T3751(1-2) et T3561(2-1) sélectionnés principalement pour sa résistance à *Meloidogyne incognita* (Guatemala), *Meloidogyne* sp. (Salvador) et *M. exigua* (Costa Rica) (ref). Les graines utilisées pour ce travail proviennent d'une pollinisation contrôlée entre les deux plantes mères. Cette variété est à l'étape de multiplication en champs semenciers et n'est donc pas encore distribuée au stade commercial.

Les graines des deux variétés sont mises à germer dans un substrat composé de cendres volcaniques stérilisées à l'autoclave (20 minutes à 1,1 kg/cm<sup>2</sup> de pression soit une température de 120°C). Quarante cinq jours après, les plantules, parvenues au stade feuilles cotylédonaire, sont retirées du germe. Les plantules dont le système racinaire a été lésé lors de cette opération sont écartées. Une sélection est ensuite effectuée sur des critères d'homogénéité de taille et d'apparence des racines. On retient en particulier celles ayant un système racinaire "classique" avec un unique pivot et des racines latérales bien développées. Les plantules retenues sont alors plantées dans des embouts Pipetman® de 15 mm de diamètre supérieure et 105 mm de longueur avec du sable de rivière tamisé (taille des particules : 50-850 µm) et également stérilisé par autoclave (figure 2.4). Quelques grains de sable d'une taille d'environ 2 mm sont tout d'abord disposés au fond des embouts pour permettre le drainage de l'eau tout en retenant le

sable fin constituant le substrat principal. Le repiquage des plantules est effectué dans l'eau afin d'assurer une répartition homogène du sable autour des racines dans l'embout Pipetman ®. Cette opération nécessite de rabattre les racines latérales avec précaution le long du pivot afin de pouvoir introduire le système racinaire dans son entier dans les cônes sans provoquer de lésions. Ces cônes permettent de maintenir toutes les racines dans un volume réduit afin de favoriser l'infestation de celles-ci par les nématodes ensuite inoculés. En fin d'opération, les plantules dans leurs cônes sont retirées de l'eau dont l'excès est évacué par l'ouverture inférieure du cône. Les plants sont acclimatés en serre durant 15 jours en disposant les cônes verticalement dans un récipient. Pendant les 12 premiers jours, on procède à une humectation journalière des feuilles par nébulisation, le substrat étant humidifié par capillarité en révisant quotidiennement que le niveau d'eau au fond du récipient contenant les cônes se maintienne à environ 1 cm. Durant les trois derniers jours avant inoculation des nématodes, l'eau est retirée du récipient contenant les cônes et seule est appliquée l'humectation journalière des feuilles par nébulisation. Ceci permet d'avoir au moment de l'inoculation des nématodes des plants sans stress hydrique mais sans excès d'eau qui pourrait par la suite provoquer une perte d'inoculum.

#### **3.2.1.2. Méthodes d'inoculation**

L'inoculum provient des trois isolats Moca, Chamtaca et Chitalon, multipliés en élevage monoxénique sur disques de carottes *in vitro*. Les nématodes récupérés par simple lavage des parois des flacons d'élevage sont mis en suspension soumise à une oxygénation durant 30 minutes par insufflation d'air afin d'augmenter la motilité des nématodes. Ces suspensions sont ensuite ajustées à une concentration de 200 nématodes par ml d'eau. Les individus immobiles ne sont pas pris en compte. De même, les oeufs, peu nombreux, ne sont pas pris en compte. Chaque plant reçoit une inoculation de 300 nématodes, soit 1,5 ml de la suspension préparée qui est appliquée à l'aide d'un Pipetman 2000 ®. Ce volume correspond en moyenne à la capacité de rétention du substrat contenu dans les cônes dans les conditions de l'étude. On obtient ainsi une répartition homogène de ce volume avec un minimum de ressuyage afin de diminuer les risques de pertes de l'inoculum par lavage dans le substrat. Lorsqu'une goutte d'eau est ressuyée, dans certaines répétitions, suite probablement à une humidité résiduelle du substrat, celle-ci est observée au microscope pour y vérifier l'absence de nématodes. Aucun nématode n'a été détecté dans cette eau de ressuyage. Durant les 96 heures suivant l'inoculation des nématodes, seule une

humectation journalière des feuilles par nébulisation est effectuée pour maintenir les plantules dans des conditions favorables d'hygrométrie. Les plantules sont exposées à une lumière naturelle indirecte.

Les trois isolats Moca, Chamtaca et Chitalon sont inoculés sur *Coffea arabica* cv. Catuai. Sur *Coffea canephora* cv. Nemaya, seuls les deux isolats Moca et Chitalon sont inoculés.

### **3.2.1.3. Méthodes d'observation des racines et des nématodes**

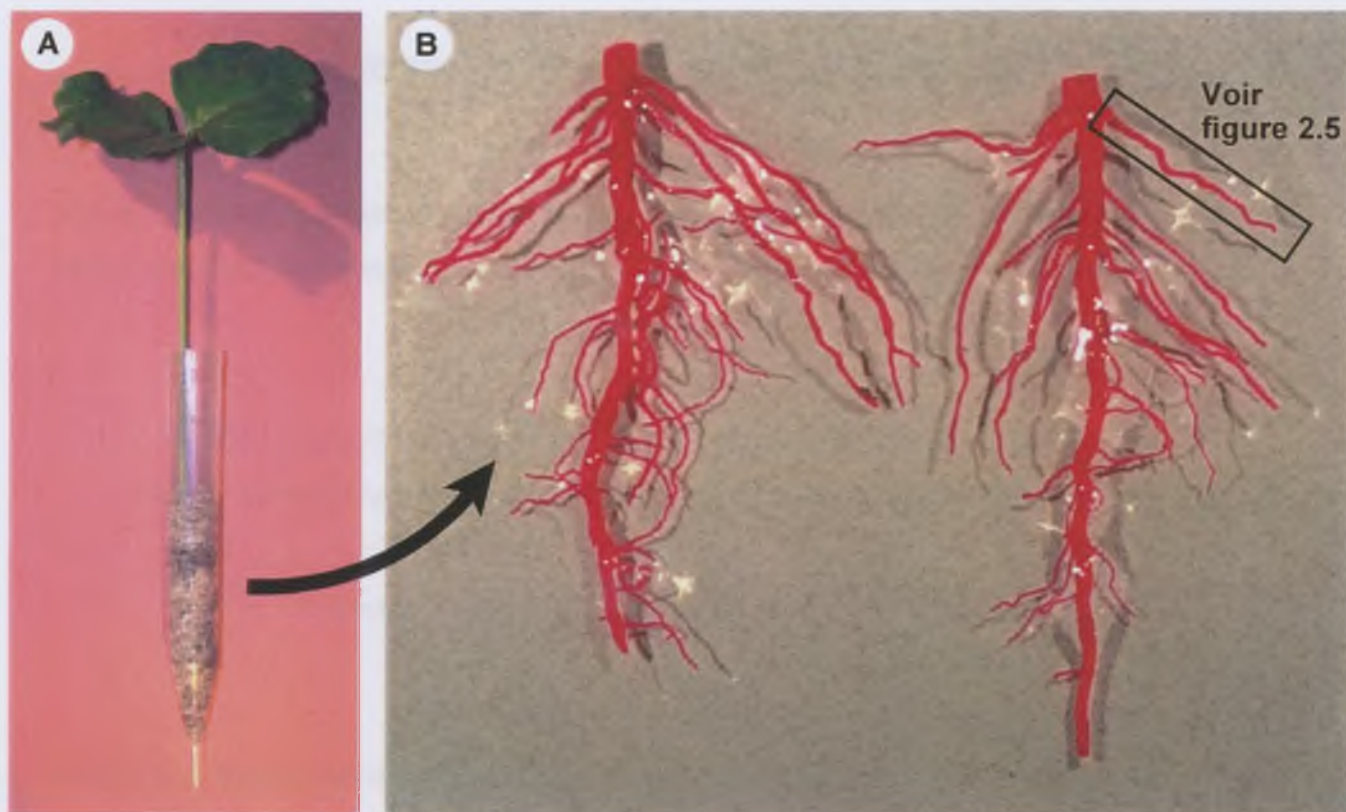
#### *Préparation des racines :*

Les plantules sont extraites des cônes, 24, 48 et 96 heures après inoculation. L'opération est effectuée dans un bac d'eau afin d'éviter au maximum toute lésion du système racinaire qui est ensuite soigneusement et délicatement lavé (sous robinet d'eau à faible débit). Les racines sont ensuite colorées à la fuchsine acide (annexe 12) bouillante durant 30 secondes. Ce temps a été déterminé après plusieurs tests. Il permet une coloration globalement satisfaisante de l'ensemble du système racinaire hétérogène quant au diamètre et au stade de lignification des racines (pivot de plus grand diamètre et plus lignifié par rapport aux racines latérales primaires et secondaires). Il permet une bonne coloration des nématodes en évitant toutefois une surcoloration des racines les plus fines (figure 2.4). Les racines sont ensuite immédiatement retirées de la fuchsine acide et rincées à l'eau. Après avoir enlevé l'excès d'eau avec du papier absorbant, les racines sont totalement immergées dans une solution de lactoglycérol (annexe 12) afin d'éliminer l'excès de colorant des tissus végétaux. Cette solution de décoloration est renouvelée après un délai de 2 jours, puis de 8 jours et enfin de 15 jours. Les racines peuvent être alors conservées dans le lactoglycérol durant plusieurs mois.

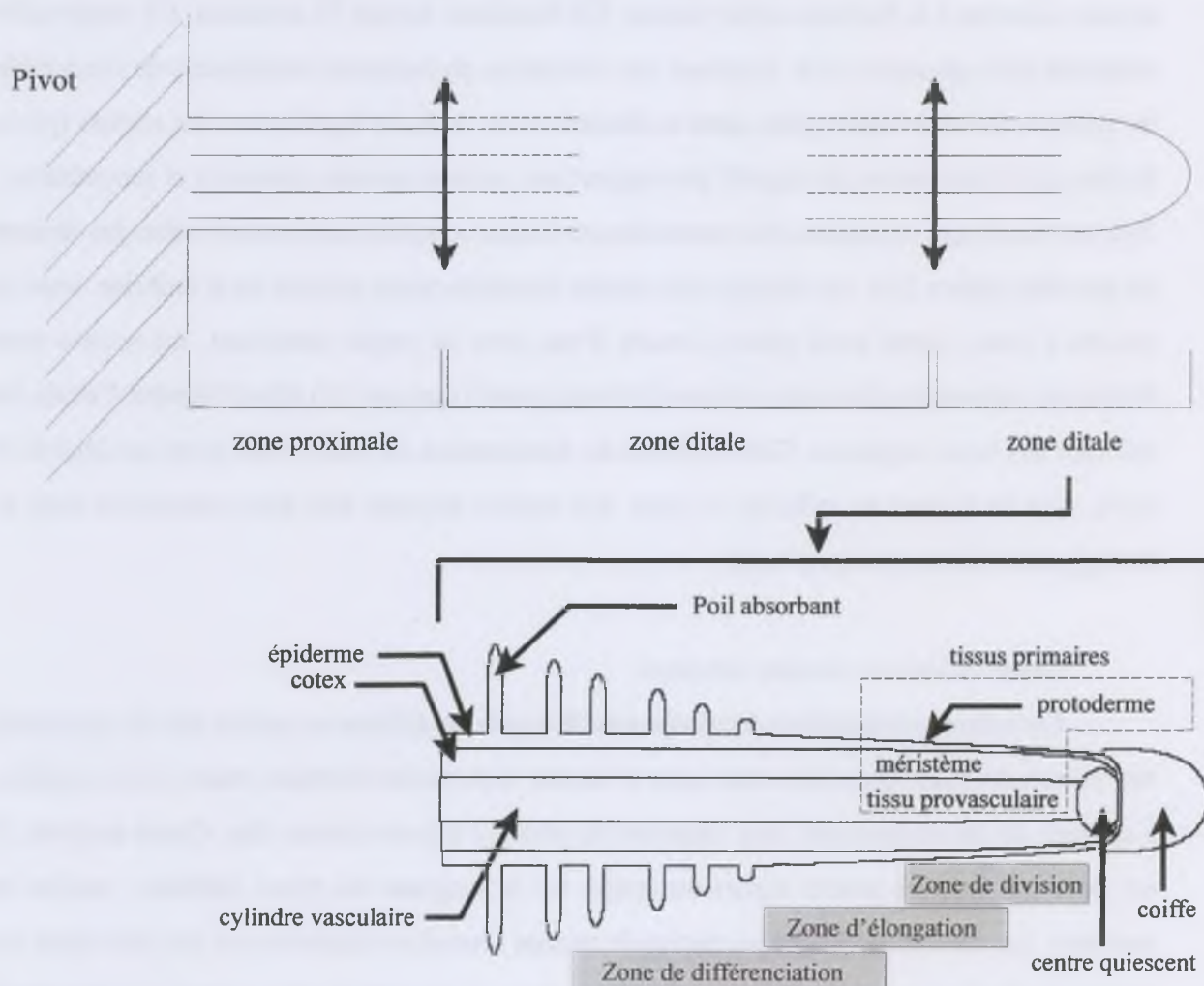
#### *Observations sur racines écrasées :*

Les systèmes racinaires décolorés sont découpés en différentes parties afin de permettre leur écrasement puis observation entre lame et lamelle. Les racines latérales, encore non-ramifiées à ce stade de développement, sont séparées du pivot à l'aide de ciseaux fins. Quant au pivot, il est découpé en trois parties égales ou étages sur la longueur du pivot: inférieur, médian et supérieur. Les différentes racines ou parties de racines sont alors disposées sur une lame dans un goutte de glycérol, puis écrasées sous un film acétate. L'écrasement des racines doit être aussi





**Figure 2.4.** A : Jeune plantule de *Coffea* sp. (stade cotylédonaire) transplanté dans un embout de Pipetman de 105 mm de longueur et 15 mm de diamètre supérieur, rempli de sable de rivière tamisé (50-850 $\mu$ m) ; B : Système racinaire après coloration à la fuchsine acide.



**Figure 2.5.** Diagramme d'une radicelle latérale de jeune plantule de *Coffea* sp. et répartition des zones d'observation de la dynamique de pénétration des isolats de *Pratylenchus*.

délicat que possible afin de conserver l'organisation des tissus et permettre ainsi l'observation des nématodes en place. Concernant les trois tronçons du pivot correspondant aux trois étages observés, ils sont coupés longitudinalement afin d'en extraire le cylindre central. Cela permet un meilleur écrasement du cortex et donc une meilleure observation des nématodes. Les lames sont observées au microscope optique afin de dénombrer les nématodes. Sur chacune des racines latérales, l'emplacement des nématodes est également relevé selon trois zones : l'extrémité proximale ou zone de jonction avec le pivot d'une longueur d'environ 2 mm; la zone médiane généralement couverte de poils absorbants sur une bonne partie de sa longueur et avec une longueur variant de 20 à 50 mm; et l'extrémité distale ou zone de croissance comprenant la zone méristématique, la zone d'élongation et la zone de différenciation (début de la région des poils absorbants) (figure 2.5).

Sur *Coffea arabica* cv. Catuai, les observations pour chaque isolat (Moca, Chamtaca, Chitalon) et date d'observation (24, 48 et 96 h) sont réalisées sur cinq plantules. Sur ce matériel, 45 plantules sont donc observées. Sur *Coffea canephora* cv. Nemaya, les observations portent sur 30 plantules (deux isolats [Moca, Chitalon] x trois dates x cinq répétitions).

Les données de populations totale de nématodes ayant pénétré dans les racines sont transformées en  $\log [x+1]$  pour homogénéiser les variances afin de réaliser les analyses de variance. Pour chaque date d'observation, une analyse de variance est effectuée sur les données correspondantes à l'aide du logiciel STATITCF. Les moyennes sont classées par le test de Newman et Keuls ( $P \leq 0,05$ ).

Afin d'analyser les données sur la distribution des nématodes dans le système racinaire, une analyse de variance est réalisée pour chaque isolat sur l'ensemble des données de populations de nématodes obtenues aux trois dates d'observation. Deux analyses sont effectuées séparément, l'une sur l'ensemble des racines latérales, en comparant les données des trois zones prédéfinies, proximale, médiane et distale ; et l'autre sur le pivot, en comparant les données des trois étages inférieur, médian et supérieur.

Concernant les racines latérales, pour tenir compte des différences de longueur des zones proximale, médiane et distale, une longueur moyenne de chacune d'elle est estimée pour en déduire la densité de nématode par mm linéaire de racines.



#### *Observations histologiques sur coupes de racines :*

Une étude complémentaire histologique a été réalisée à partir de racines des deux matériels génétiques testés dans cette étude : *C. arabica* cv. Catuai et *C. canephora* cv. Nemaya. Des racines saines et parasitées par des nématodes de l'isolat Chitalon 96 h après inoculation, déjà traitées par la coloration à la fuchsine acide sont utilisées pour réaliser des coupes histologiques. Des tronçons de ces racines sont fixés au glutaraldéhyde paraformaldéhyde caféine, déshydratés dans l'éthanol et inclus dans le glycolméthacrylate pour être découpés au microtome à 7 µm. Les coupes sont colorées à l'acide périodique Schiff (APS) Naphtol Blue Black (annexe 11). Les coupes sont ensuite observées au microscope optique.

### **3.2.2. Etude comparative en pots de la capacité à causer des dégâts des isolats de *Pratylenchus* sur *C. arabica* et *C. canephora*.**

#### **3.2.2.1. Matériel végétal**

Les deux matériels végétaux utilisés pour ce travail sont:

- Pour l'espèce, *C. arabica*, le cultivar Catuai est choisi pour les raisons déjà décrites précédemment.
- Pour l'espèce *C. canephora*, le matériel génétique utilisé ici est une descendance libre (pollinisation non contrôlée) d'un des clones parents du cultivar hybride Nemaya : le T3751 (1-2).

Le substrat utilisé pour les germeoirs et l'empotage consiste en un mélange de cendres volcaniques et de terre dans une proportion de 1:2. Ce substrat est stérilisé au bromure de méthyle dans un bac de traitement prévu à cet effet durant 15 jours. Le substrat est ensuite laissé 1 mois et demi à l'air libre et brassé périodiquement.

Après germination, les plantules au stade feuilles cotylédonaire, environ 50 jours après semis, sont mises en pots de 0,015 dm<sup>3</sup>. Les plants sont disposés dans une serre couverte par un filet double filtrant les rayonnements solaires. Les conditions de température et d'hygrométrie sont : 27 ± 5°C et 60 à 90% d'humidité relative, respectivement. Les plants sont soumis à une photopériode naturelle d'environ 13h/11h (jour/nuits).



### **3.2.2.2. Méthodes d'inoculation**

Les inoculums sont récupérés de la même manière que pour l'étude de dynamique de pénétration. Les suspensions sont ajustées pour avoir des concentrations d'environ 40 nématodes/ml. Chaque plant est inoculé 90 jours après germination (stade 2 paires de feuilles) avec 200 nématodes (adultes et juvéniles confondus) sur la surface du substrat autour du collet à l'intérieur d'un cercle de 2 cm environ. Le volume d'inoculum est d'environ 5 ml en fonction de la concentration de la suspension et est appliqué à l'aide d'un Pipetman 2000<sup>®</sup>. Pour chaque isolat, et chaque matériel végétal, 30 caféiers sont ainsi inoculés. Trente plants témoins de chacun des deux matériels végétaux sont également conservés sans inoculation. Un jour avant l'inoculation des nématodes, les plants sont arrosés au point de saturation puis ceux ci restent sans arrosage durant 3 jours avec seulement une humectation des feuilles afin d'éviter au maximum le lessivage de l'inoculum. Les plants sont ensuite quotidiennement arrosés par jet d'eau à faible pression.

### **3.2.2.3. Variables observées et analyses des données**

Afin d'évaluer la capacité parasitaire des isolats sur les deux matériels végétaux, la population de nématodes présente dans les racines est évaluée après extraction des nématodes par la méthode de centrifugation-flottation (voir dans ce chapitre § 4.1.2) à 50, 100 et 150 jours après inoculation. Les données de populations de nématodes ayant pénétré dans les racines sont transformées en  $\log [x+1]$  pour homogénéiser les variances et réaliser les analyses de variance à l'aide du logiciel STATITCF. Une analyse de variance est réalisée pour chaque date d'observation sur l'ensemble des données de populations obtenues sur *C. arabica* et *C. canephora* pour les trois isolats. Les moyennes sont classées par le test de Newman et Keuls ( $P \leq 0,05$ ). Pour la deuxième observation, 100 jours après l'inoculation, le comptage est effectué en distinguant les différents stades de développement, oeufs, juvéniles, adultes, et le sexe pour ces derniers. Une analyse de variance est réalisée sur l'indice andrique et le taux [oeufs+juvéniles]/femelles ( $[W+J]/\varnothing$ ) observés sur *C. arabica* et *C. canephora* pour les trois isolats. La relation entre la densité de populations de nématodes dans les racines et le taux  $[W+J]/\varnothing$  est analysée et le modèle le mieux ajusté à ces données est recherché au moyen des logiciels CurvX et Statistica.

Les effets du parasitisme par les nématodes sur les plants sont évalués, également à 50, 100 et 150 jours après inoculation en mesurant : la hauteur de tige (du collet à l'apex de la tige orthotrope) ; les poids frais des racines et de la partie aérienne (séparation au niveau du collet). On en déduit le poids frais total des plants. Afin de pouvoir comparer les résultats des variables végétatives mesurées sur les deux matériels végétaux différents, on calcule les poids frais relatifs des plants par rapport au poids frais moyen des plants témoins non inoculés, du même matériel génétique, *C. arabica* ou *C. canephora*, à la même date.

La relation entre les dommages observés sur la plante et la densité de nématodes dans les racines est analysée. Dans un premier temps, on étudie la relation entre la capacité de chaque isolat à réaliser des dommages et sa capacité parasitaire. Pour cela on analyse la relation entre le poids frais moyen des racines ou de la partie aérienne de tous les plants sur lesquels a été inoculé un isolat donné, 150 jours après inoculation et la moyenne des effectifs de nématodes par g de racines, observés 50 et 100 jours après inoculation du même isolat et transformés en  $\log [x+1]$ . Cette variable de densité de populations de nématodes calculée à partir des données observées à deux dates permet une meilleure évaluation de la croissance des populations de nématodes. le modèle le mieux ajusté à ces données est recherché au moyen des logiciels CurvX et Statistica. Dans un deuxième temps cette relation entre les dommages observés sur la plante et la densité de nématodes dans les racines est analysée au niveau individuel des plants en utilisant les poids frais relatifs afin de pouvoir comparer les données observées sur les deux matériels génétiques *C. arabica* et *C. canephora*. Cette relation est étudiée avec les données observées 100 jours après l'inoculation des nématodes lorsque les populations sont encore en croissance ou bien à leur niveau maximum, pour les trois isolats. On analyse donc la relation entre le poids frais relatif des racines ou de la partie aérienne de chaque plant et la moyenne des densités de nématodes dans les racines transformés en  $\log [x+1]$ . La recherche d'un modèle s'ajustant aux données observées est effectuée au moyen des logiciels CurvX et Statistica.

#### 4. ETUDES SUR LA BIOÉCOLOGIE DE QUELQUES POPULATIONS NATURELLES DE *PRATYLENCHUS*

##### 4.1 Caractéristiques agro-écologiques des parcelles d'étude

Les principales caractéristiques écologiques des trois sites d'étude de populations naturelles de *Pratylenchus* sont décrites dans le § 2.1 de ce chapitre ainsi que dans le tableau 2.1 et les annexes 3 et 4. Sur les trois sites, la parcelle étudiée présente une densité de plantation de caféiers de 5 000 plants 1 m (espacement entre caféiers sur le rang) x 2 m (espacement entre rangs de caféiers). Les plants sont conduits selon le système de taille d'une tige orthotrope par plant. Les caféiers sont cultivés sous ombrage fourni par des arbres de l'espèce *Inga* sp. Ces arbres sont taillés chaque année en mars-avril, en fin de saison sèche (voir chapitre 1. § 1.5 ; figure 1.7).

##### 4.2. Méthodes d'échantillonnage et d'extraction des nématodes de racines de caféiers

###### 4.2.1. Méthodes de prélèvement des échantillons

Pour les études au champ, le protocole de prélèvement de racines est en accord avec les données connues sur la répartition des racines latérales les plus fines (diamètre inférieur à 2 mm, non ou peu lignifiées) de *C. arabica* (voir chapitre 1. § 1.4). Les racines sont prélevées sur le rang dans un volume de sol de 20 cm x 20 cm de base et de 15 cm de profondeur depuis la surface du sol, à une distance de 20 cm de la base du tronc. Cette méthode d'échantillonnage est également en accord avec une étude menée au Costa Rica sur la distribution verticale et horizontale des nématodes sur *C. arabica* (Bolivar *et al.*, 1984). Afin d'obtenir au moins 25 g de racines non lignifiées, au moins cinq plants sont échantillonnés pour constituer chaque échantillon élémentaire traité au laboratoire. Le nombre d'arbres échantillonnés dépend de la taille de la parcelle étudiée comme nous le verrons ultérieurement. Les études nématologiques sur une culture pérenne comme celle des caféiers requièrent des échantillonnages répétés dans le temps. De ce fait la méthode d'échantillonnage utilisée est de type séquentiel. Les plants de la parcelle expérimentale étant numérotés de 1 à n, le premier échantillonnage est effectué sur les plants 1, 1+q, 1+2q ..., q étant égal au cycle de prélèvements, c'est à dire le nombre d'échantillonnage que l'on fera avant



de revenir sur les mêmes plants. Le second échantillonnage s'effectue alors sur les plants 2, 2+q, 2+2q ... Arbitrairement, le plant n° 1 est celui situé en haut à gauche, en regardant la parcelle dans la direction de la pente vers le haut. Suivant le nombre de plants que l'on veut échantillonner et le cycle de prélèvement choisi, on choisira donc une taille de parcelle suffisante pour que le nombre total de plants  $n$  soit au moins égal à  $q \times$  le nombre de plants à échantillonner à chaque prélèvement. Cette méthode permet d'éviter les biais des échantillonnages effectués au hasard ou sur des plants en fonction de leur apparence, en accord avec les préconisations de Duncan (1988) pour les prélèvements nématologiques dans les vergers de *Citrus*.

#### 4.2.2. Méthodes d'extraction des nématodes

Chaque échantillon composite de racines prélevé sur l'une des parcelles expérimentales est lavé sous jet d'eau à faible pression pour ne pas endommager les fines racelles ou les racines parfois fragilisées par les lésions. On coupe au sécateur les racines secondaires non ou peu lignifiées. Celles-ci sont soigneusement mélangées pour que soit prélevée une aliquote de 25 g. Celle-ci est broyée au mixeur (15 secondes à vitesse moyenne et 15 secondes à vitesse rapide). Le broyat est passé sur une colonne de tamis (850  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$ , 45  $\mu\text{m}$ , 38  $\mu\text{m}$  et 25  $\mu\text{m}$ ) en utilisant un volume d'eau standardisé à 10 litres. Le matériel collecté dans les 3 derniers tamis est soumis à une centrifugation-flottation selon la méthode de Coolen & D'Herde (1972). Chaque échantillon est traité simultanément dans deux tubes de centrifugation de 50 ml. La première centrifugation est réalisée dans l'eau, à environ 3500 g durant 5 minutes. Pour faciliter la sédimentation et éviter une rupture du culot lors de l'élimination du surnageant, environ 1 g de kaolin est ajouté dans chaque tube de centrifugation (Kermarrec & Bergé, 1972 ; Gooris & D'Herde, 1972). Après élimination du surnageant, le culot est remis en suspension dans une solution sucrée préparée selon une concentration permettant une densité de 1,18 (484 g de sucre de canne qsp 1 litre d'eau). La seconde centrifugation est effectuée avec la même durée et la même vitesse que la première. Le surnageant est récupéré dans un tamis de 5  $\mu\text{m}$  et est immédiatement rincé sous jet d'eau à faible pression pour éviter la détérioration des nématodes par osmose du fait de l'usage de la solution sucrée. Les nématodes sont soigneusement transférés sous jet de pissette dans une éprouvette complétée à 100 ml. Trois comptages sur trois aliquotes de 1 ml sont réalisés pour chaque échantillon. On détermine ainsi une densité moyenne pour chaque échantillon, exprimée en nématodes par gramme de racines.

#### 4.3. Etude des fluctuations de populations de *Pratylenchus* sur *C. arabica* à deux altitudes différentes.

##### 4.3.1. Description des parcelles étudiées et de l'échantillonnage:

###### *Etude à 450 mètres d'altitude sur le site de Buena Vista (figure 2.2) :*

Cette étude a été réalisée sur la station expérimentale d'ANACAFE (Finca Buena Vista, commune de San Felipe Retalhuleu, Département de Retalhuleu) située à une altitude de 450 m c'est-à-dire au niveau de la limite inférieure en altitude de la culture de *C. arabica* au Guatemala. L'étude des suivis de populations a débuté en août 1989. Cette parcelle a été plantée avec le cultivar Catuai (voir chapitre 1. § 1.5.2.) en juin 1983 et a été recépée en décembre 1987. Des échantillonnages mensuels ont été réalisés durant quatre ans d'août 1989 à juillet 1993. La densité de plantation des arbres d'ombrage est d'environ 8 m x 8 m. Chaque prélèvement de racines est effectué sur 20 plants pour constituer quatre échantillons élémentaires comme décrit précédemment. L'échantillonnage selon un mode séquentiel est effectué avec un cycle  $q = 20$ . La parcelle d'étude est constituée de 400 plants répartis sur dix rangs (parcelle carrée de 800 m<sup>2</sup>).

###### *Etude à 1200 mètres d'altitude sur le site de Moca (figure 2.2) :*

Cette étude est menée sur une exploitation (Finca Moca, commune de Santa Barbara, Département de Suchitepequez) située au niveau de la frange supérieure en altitude de la culture de *C. arabica* dans cette région, la limite supérieure se situant à environ 1600 m d'altitude. Cette parcelle a été plantée en 1984 avec le cv. Caturra et avait été recépée en 1989. La densité de plantation des arbres d'ombrage est d'environ 12 m x 12 m. Les suivis de populations ont été réalisés durant trois années de janvier 1994 à décembre 1996, selon une fréquence bimensuelle. Comme pour le site de Buena Vista, chaque prélèvement de racines est effectué sur 20 plants pour constituer quatre échantillons élémentaires. L'échantillonnage selon un mode séquentiel est effectué avec un cycle  $q = 40$ . La parcelle est constituée de 800 plants répartis sur 20 rangs (parcelle carrée de 1600 m<sup>2</sup>).



#### **4.3.2. Variables observées et analyses des données**

Pour les deux sites les dénombrements de *Pratylenchus* sont réalisés en comptabilisant les différents stades juvéniles et adultes ainsi que les sexes. Sur les deux sites, la population de *Pratylenchus* étant très largement dominante. Sur différents échantillons des deux sites, la population de *Pratylenchus* constituait plus de 90% des effectifs totaux de nématodes phytoparasites. Pour cette raison, seuls les effectifs de ce nématode ont été pris en compte. Du fait de cette dominance d'espèce, les oeufs ont également été dénombrés. Dans ce but, l'eau de lavage des tamis lors de l'extraction est récupérée dans un seau afin d'être repassée sur un tamis de 5  $\mu\text{m}$ . Du fait de la lourdeur de cette manipulation allongeant considérablement les temps d'extraction avec de fréquents problèmes de colmatage du tamis à maille très fine, cette récupération des oeufs n'a été effectuée que pour l'étude menée sur le site de Buena Vista.

Pour les deux sites, on dispose des données des précipitations journalières. Pour les températures, on ne dispose que de données mensuelles des températures de l'air collectées sur des stations météorologiques (Source : Instituto de Sismología, Meteorología y Vulcanología, INSIVUME) situées à proximité des sites étudiés. Pour ce qui concerne la plante, on dispose des dates de floraisons et de récolte.

Pour ces deux études de séries chronologiques de densités de populations de *Pratylenchus*, une première analyse graphique est effectuée afin de décrire les fluctuations observées en relation avec les variables environnementales abiotiques et biotiques disponibles. Une seconde approche statistique (logiciel Statistica) a été réalisée pour analyser la saisonnalité des fluctuations. L'autocorrélogramme des données est réalisé dans un premier temps. Une analyse fréquentielle par décomposition spectrale des séries est ensuite réalisée pour dégager les principales périodicités des deux séries étudiées. Une étude plus précise par désaisonnalisation des séries pour étudier les mouvements résiduels n'a pas été effectuée du fait du peu de cycles annuels étudiés (quatre et trois pour les deux sites). Des analyses d'autorégression des données sont également réalisées pour étudier les phénomènes de densité-dépendance. Des études d'intercorrélations entre les données de densité de populations de nématodes et les données journalières en faisant varier la durée de cumul de précipitations (15 jours, un mois, deux mois, trois mois) et le pas de décalage des données des variables n'ont pas permis de dégager de corrélations significatives. Les résultats détaillés de cette analyse ne seront donc pas présentés.



#### 4.4. Capacité à causer des dégâts au champ d'une population de *Pratylenchus* et effets du greffage et des traitements nématicides dans la lutte contre ce parasite

##### *Parcelle d'étude et dispositif expérimental :*

L'étude est menée sur une exploitation (Finca San Jeronimo, Département de Suchitepequez) située sur le versant sud du volcan Atitlan de la chaîne volcanique Sierra Madre à une altitude de 900 m (figure 2.2 et tableau 2.1). La parcelle expérimentale est située dans une ancienne plantation de *C. arabica* cv. Bourbon d'environ 20 ans d'âge et fortement infestée par *Pratylenchus* sp. Le cultivar utilisé pour cette expérimentation est le Caturra (voir chapitre 1. § 1.5.2). Le greffage hypocotylédonaire de la moitié des plants est effectué sur *C. canephora* sur plantules âgées de 6-8 semaines (stade feuilles cotylédonaire). Les plants greffés ou non greffés sont élevés en pépinière durant 10 mois individuellement en sac de polyéthylène de 2 dm<sup>3</sup>. Durant cette période, les plants reçoivent des applications de terbufos (0,1 g / plant). Au moment de la plantation, l'ombrage est assuré par des arbres *Inga* sp. plantés depuis plus de 10 ans. L'espacement de ces arbres est d'environ 8 m x 10 m.

L'expérimentation est menée selon un dispositif en bloc aléatoires complets avec deux facteurs ayant chacun deux niveaux : greffés ou non greffés et avec ou sans traitement nématicide. Ce dispositif comporte quatre répétitions. Chaque parcelle expérimentale est constituée de 84 plants répartis sur 12 rangs (parcelles carrées de 168 m<sup>2</sup>). Les observations portent sur les 50 plants centraux (cinq rangs de dix plants).

##### *Variables observées :*

Pour évaluer les densités de populations de nématodes, deux échantillons de racines sont prélevés chaque année, l'un en février, durant la saison sèche et le second en juillet durant la période dite de "canicule", de moindre précipitations en milieu de saison des pluies (annexe 3). Ces périodes correspondent aux maxima de densité de populations observées durant l'année dans les conditions de la région où se situe l'expérimentation comme nous le verrons ultérieurement (voir chapitre 3. § 3.1). Ces échantillonnages sont effectués dès que les plants ont passé 11 mois au champ (avril 1992) c'est à dire lorsque l'on considère que le système racinaire est

suffisamment développé pour supporter les prélèvements de racines sans trop être affecté. Dans chaque parcelle les échantillons de racines ont été prélevés sur huit plants différents régulièrement espacés dans chaque parcelle expérimentale selon le mode séquentiel déjà décrit. Les échantillons de racines obtenus à partir de huit plants selon le protocole déjà décrit sont ensuite mélangés pour composer un seul échantillon par parcelle.

La récolte des cerises de café à maturité est effectuée dans chaque parcelle expérimentale de 1993 à 1995. Elle est exprimée en kg de café cerises par ha.

Tous les plants sont examinés individuellement durant la période de récolte, de 1992 à 1995. Les plants sans fruit et totalement défoliés sont considérés comme morts et comptabilisés pour déterminer le taux de mortalité dans chaque parcelle depuis la plantation jusqu'à l'année d'observation.

Pour chaque plant, un indice d'ombrage est évalué en estimant visuellement la projection de la frondaison des arbres. L'échelle est établie comme suit : 1 : 0-25% ; 2 : 25-50% ; 3 : 50-75% ; 4 : > 75% d'ombrage. Un indice d'ombrage moyen est calculé pour chaque parcelle expérimentale à partir des niveaux évalués pour chacun des 50 plants la constituant.

Les densités de nématodes par gramme de racines sont transformés en  $\log[x+1]$  pour réaliser les analyses statistiques. La moyenne des deux données transformés en  $\log[x+1]$  de l'année 1992 donne ce que nous appellerons la densité de populations initiale de nématodes. La moyenne des données transformés en  $\log[x+1]$  des quatre années de 1992 à 1995 donne ce que l'on appellera la densité de populations moyenne de nématodes. Toutes les analyses sont réalisées au moyen du logiciel STATITCF. Pour l'interprétation des analyses statistiques, le seuil de signification est fixé à  $P \leq 0,05$ .

## Chapitre 3 : Résultats-Discussion



## **1. ETUDES MORPHOLOGIQUE ET ANATOMIQUE DE QUATRE ISOLATS DE *PRATYLENCHUS***

### **1.1. Observations morpho-anatomiques des isolats**

#### **1.1.1. Résultats**

##### **1.1.1.1. Observations au microscope électronique à balayage (MEB) des caractères morphologiques de surface de quatre isolats**

###### *Configuration du premier anneau céphalique :*

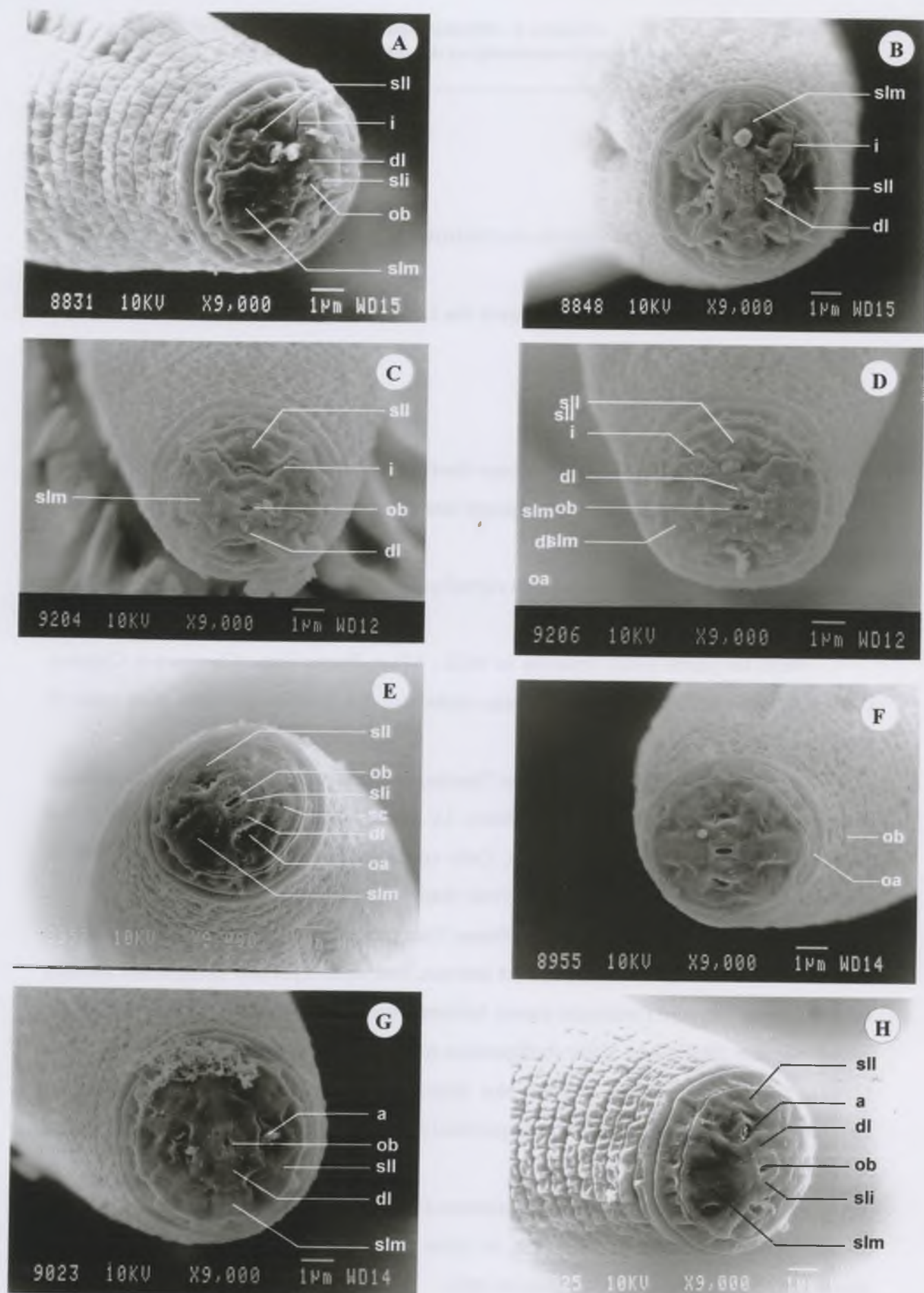
Parmi les quatre isolats observés au MEB : Moca, Buena Vista, Chamtaca et Chitalon, l'observation au MEB du premier anneau céphalique des femelles, a révélé deux types de configuration :

- Les femelles des isolats Chitalon et Chamtaca ont toutes une face lisse, sans subdivisions entre secteurs labiaux submédians et latéraux. Le disque labial proéminent est fusionné aux secteurs labiaux submédians (figure 3.1). Cette configuration correspond au groupe I de la nomenclature de Corbett & Clark (1983) (voir chapitre 1. § 2.6 ; figure 1.13).

- Les femelles des isolats Moca et Buena Vista présentent un premier anneau céphalique subdivisé en secteurs labiaux submédians et latéraux, bien séparés par une incisure. Les secteurs labiaux submédians dont l'extrémité interne fusionne avec le disque labial, vont en s'élargissant vers l'extérieur (figure 3.1). Cette configuration correspond au groupe II de Corbett & Clark (1983). Les secteurs labiaux latéraux plus larges contiennent dans leur partie interne les ouvertures des amphides embrassant le disque labial comme pour les isolats Chitalon et Chamtaca.

L'observation des mâles montre l'existence d'un dimorphisme sexuel pour la configuration du premier anneau céphalique. Toutefois, de même que pour les femelles, la présence de deux phénotypes différents est observée chez les mâles :

- Les mâles des isolats Chitalon et Chamtaca présentent, tout comme les femelles, une configuration simple du premier anneau céphalique, sans subdivisions ni ornements. Seul



**Figure 3.1.** Vues au microscope électronique à balayage de la partie antérieure de femelles de quatre isolats de *Pratylenchus* ; A-B : isolat Moca ; C-D: isolat Buena Vista ; E-F : isolat Chitalon ; G-H : isolat Chamtaca. dl : disque labial ; i : incisure ; sc : sensilles céphaliques ; sli : sensilles labiales internes ; sll : secteur labial latéral ; slm : secteur labial submédiant ; oa : ouverture d'amphide ; ob : orifice buccal.



apparaît le disque labial un peu proéminent alors que les secteurs labiaux latéraux et submédians sont indifférenciés (figure 3.2). Il ne semble donc pas y avoir de dimorphisme sexuel prononcé au niveau du premier anneau céphalique pour ces deux isolats.

- Les mâles des isolats Moca et Buena Vista, eux présentent par contre une ornementation du premier anneau céphalique. Toutefois, celle-ci est différente de celle observée chez les femelles. On observe autour du disque labial la présence de quatre secteurs cunéiformes (figure 3.2). Les secteurs submédians des mâles ne montrent aucune délimitation précise au contraire des femelles. Il apparaît donc pour ces deux isolats un dimorphisme sexuel visible au niveau du premier anneau céphalique.

*Annélation de la capsule céphalique des femelles :*

Deux anneaux sont généralement observés au niveau de la capsule céphalique pour les quatre isolats ici étudiés. Cependant, un troisième apparaît parfois sur l'un des côté (figure 3.3). Des subdivisions sont en effet observées au niveau des deux anneaux céphaliques faisant apparaître ou non, suivant l'angle d'observation, un anneau supplémentaire.

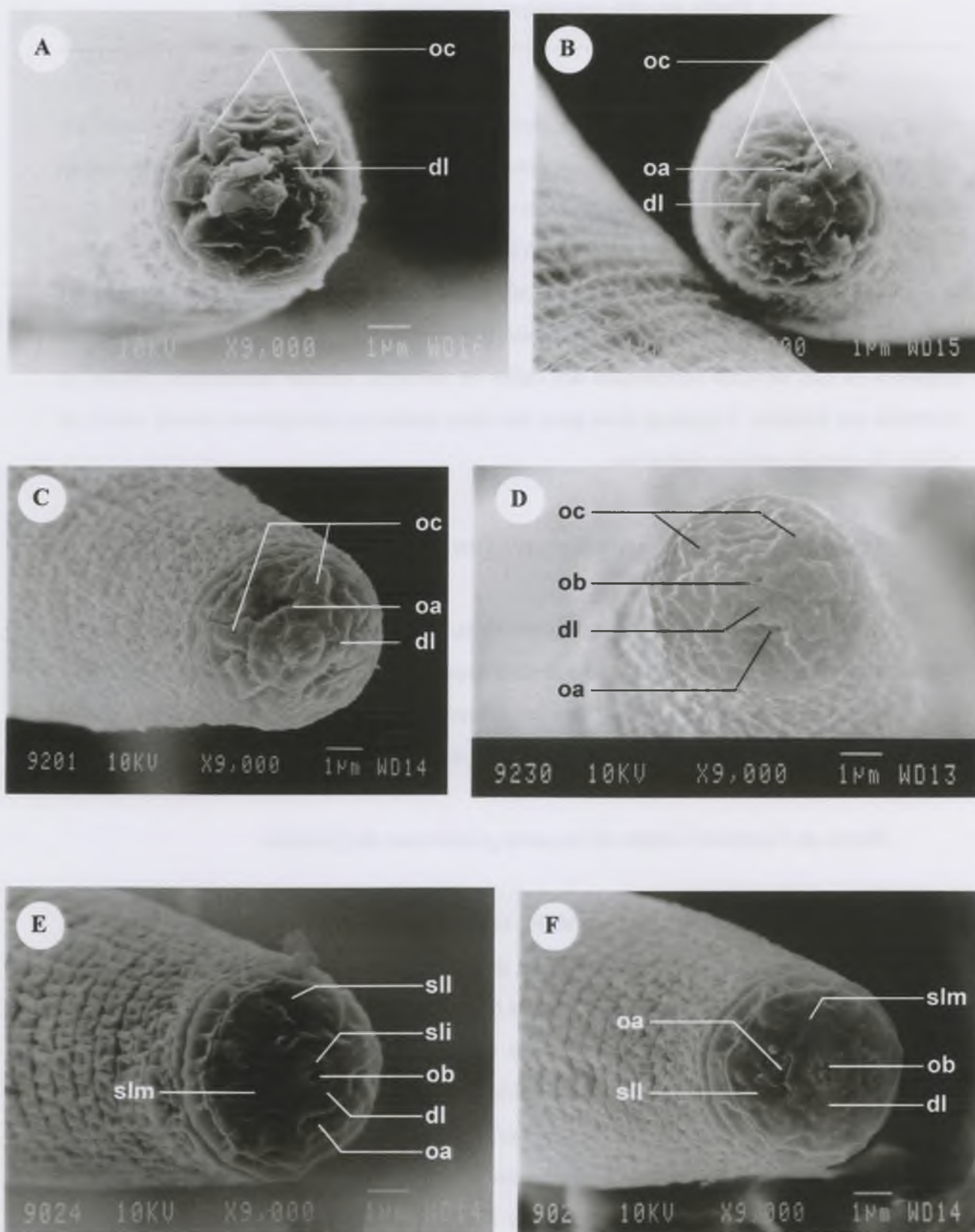
*Forme de l'extrémité distale de la partie postérieure des femelles:*

L'observation des femelles au MEB, environ 10 individus pour chaque isolat, fait apparaître, tout comme au microscope optique, deux phénotypes selon qu'ils appartiennent aux isolats Chitalon et Chamtaca ou bien aux isolats Moca et Buena Vista :

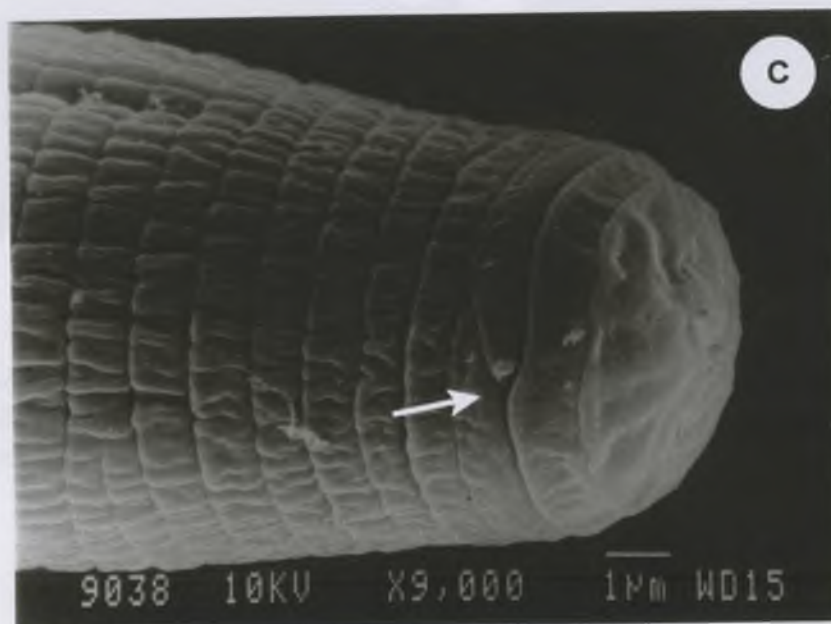
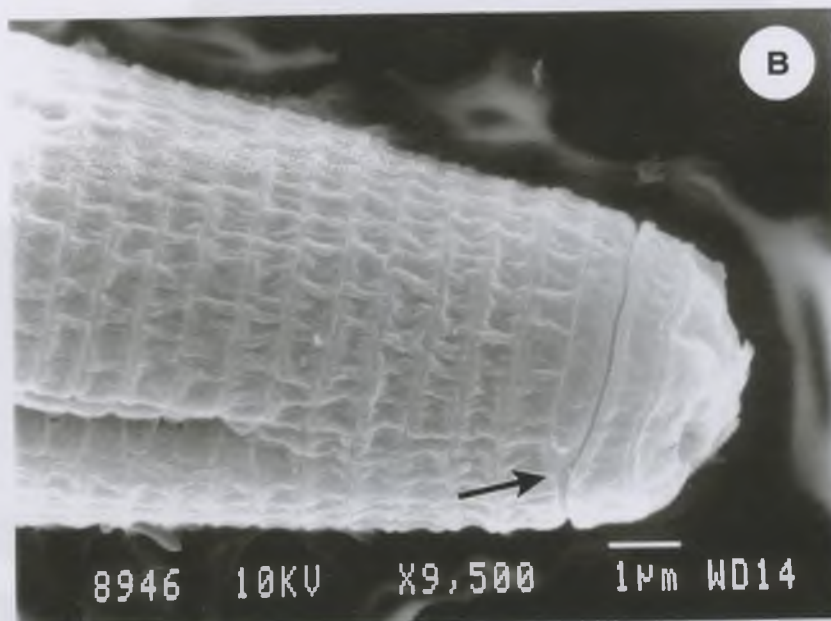
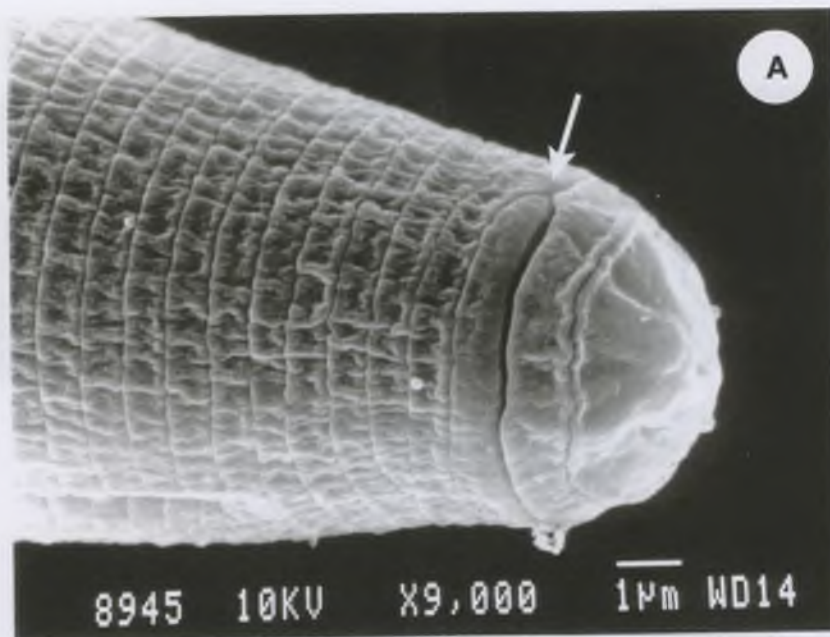
- Les femelles appartenant aux isolats Chitalon et Chamtaca présentent une partie postérieure de forme cylindrique ou subcylindrique dont l'extrémité distale apparaît souvent tronquée (figure 3.4) (voir nomenclature d'après Frederick et Tarjan (1989) : annexe 7). L'extrémité distale de la partie postérieure montre une ornementation en rides bien marquée.

- Les femelles appartenant aux isolats Moca et Buena Vista présentent une partie postérieure de forme conoïde dont l'extrémité distale est de forme subhémisphérique à franchement pointue (figure 3.4) ("subhemispherical" et "bluntly pointed" d'après Frederick et Tarjan (1989) ; annexe 7). Les champs latéraux se poursuivent et se rejoignent sans interruption jusqu'à l'extrémité distale des parties postérieures, observation déjà faite par Corbett & Clark (1983) pour une population de *P. loosi*. Les observation au MEB des parties postérieures des



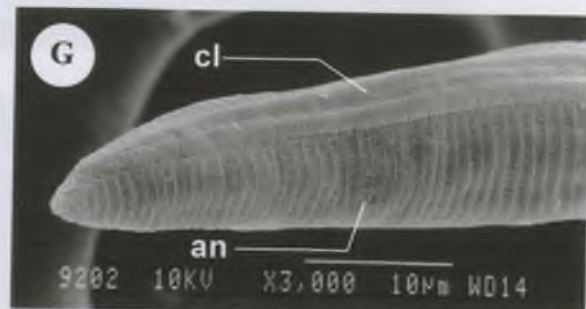
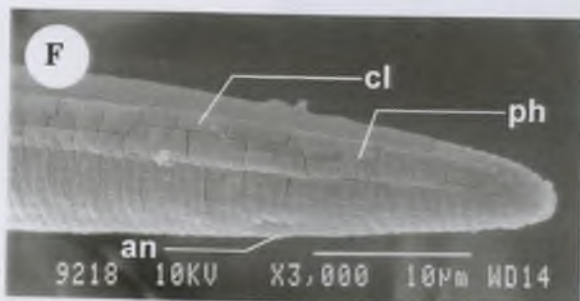
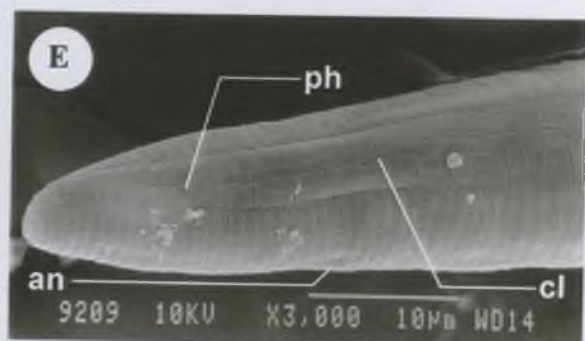
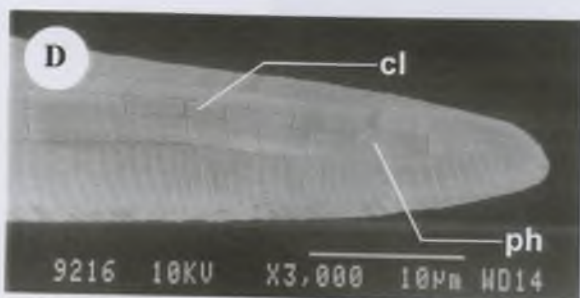
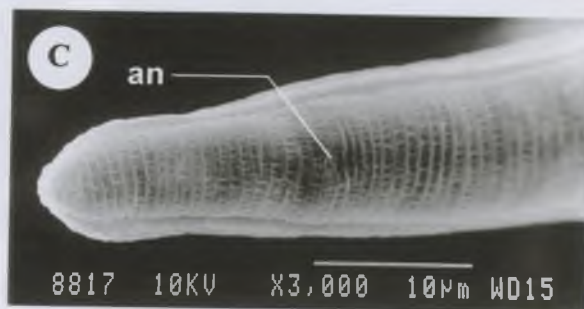
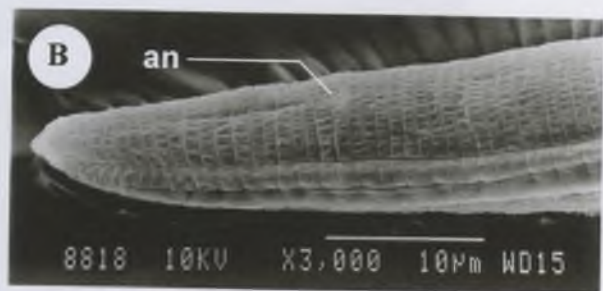
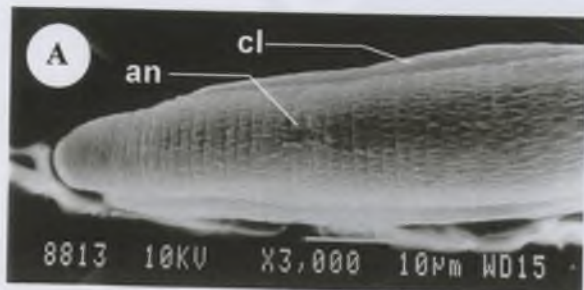


**Figure 3.2.** Vues au microscope électronique à balayage des parties antérieures de mâles de trois isolats de *Pratylenchus* ; A-B : isolat Moca ; C-D : isolat Buena Vista ; E-F : isolat Chitalon. dl : disque labial ; sli : sensilles labiales internes ; sll : secteur labial latéral ; slm : secteur labial submédiant ; oa : ouverture d'amphide ; ob : orifice buccal ; oc : ornementation cunéiforme.



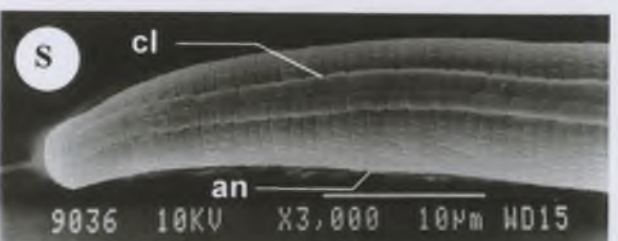
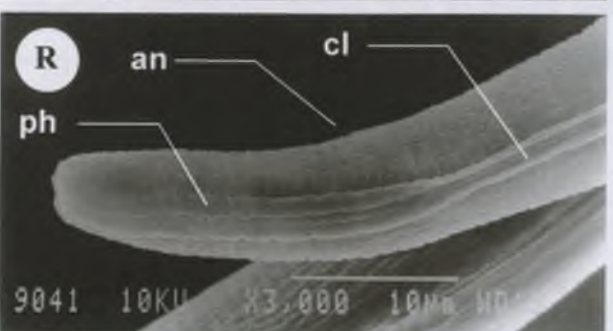
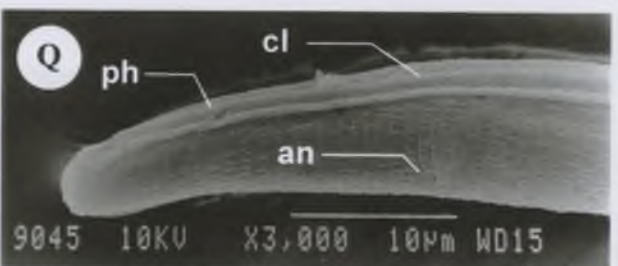
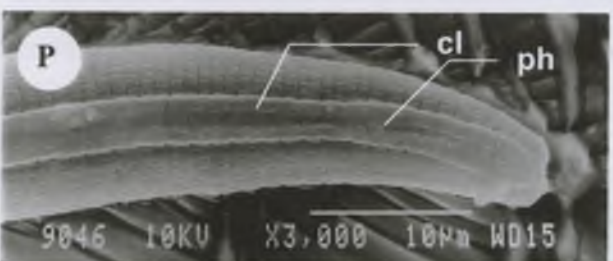
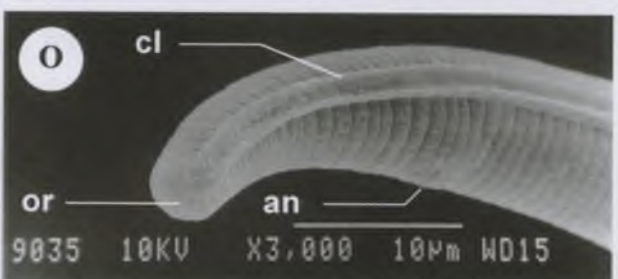
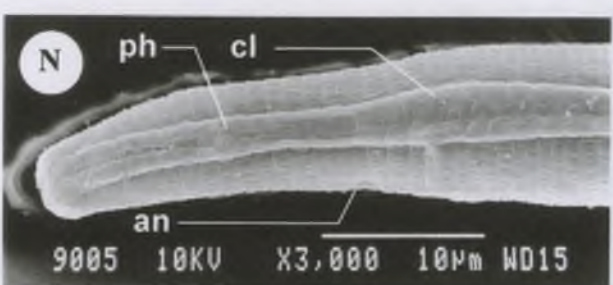
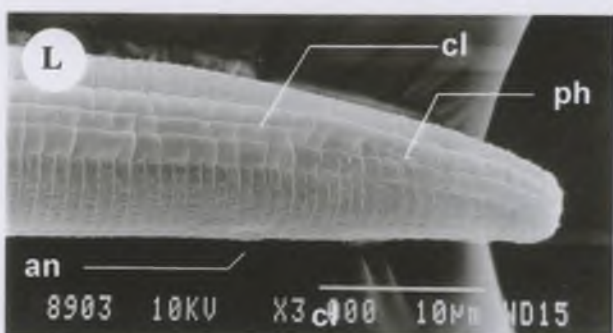
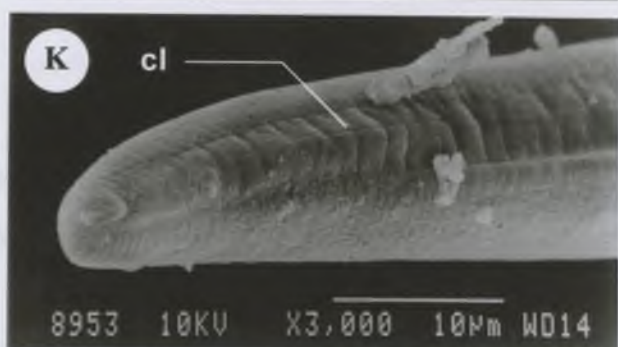
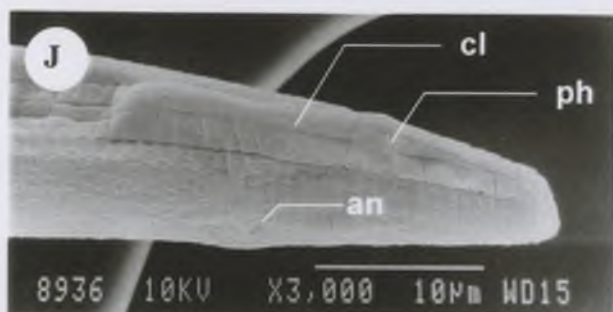
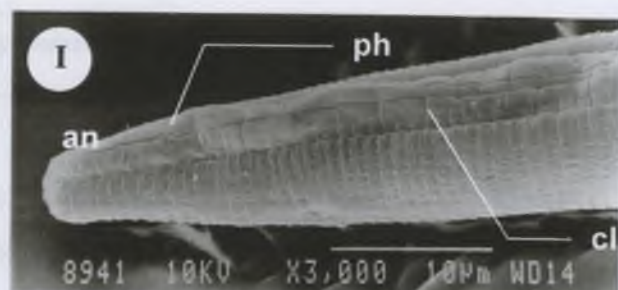
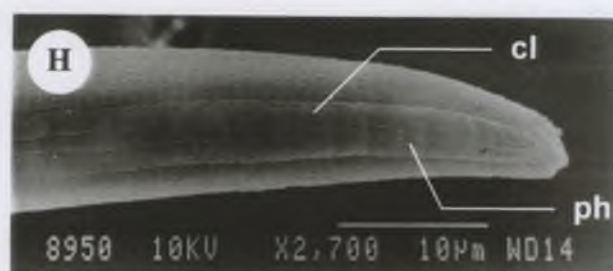
**Figure 3.3.** Vues de profil au microscope électronique à balayage de la partie antérieure de femelles d'isolats de *Pratylenchus* faisant apparaître des subdivisions au niveau des anneaux céphaliques. A-B : Isolat Chitalon ; C : isolat Chamtaca





**Figure 3.4.** (double page) : Vues au microscope électronique à balayage de partie postérieure de quatre isolats de *Pratylenchus* ; **A-C** : Isolat Moca ; **D-G** : Isolat Buena Vista ; **H-L** : Isolat Chitalon ; **M-S** : Isolat Chamtaca. an : anus ; cl : champs latéraux ; or : ornementation en rides ; ph : phasmides





femelles d'une population supposée appartenir à *P. gutierrezi* révèlent une morphologie semblable à celle des isolats Moca et Buena Vista.

*Ornementation des champs latéraux:*

Les champs latéraux observés sur différentes femelles montrent une importante variabilité de leur ornementation avec un nombre variable des bourrelets visibles (figure 3.5).

**1.1.1.2. Observations au microscope optique de caractères morphologiques et anatomiques des femelles de trois isolats**

Les trois isolats observés au microscope optique sont : Moca, Chamtaca et Chitalon.

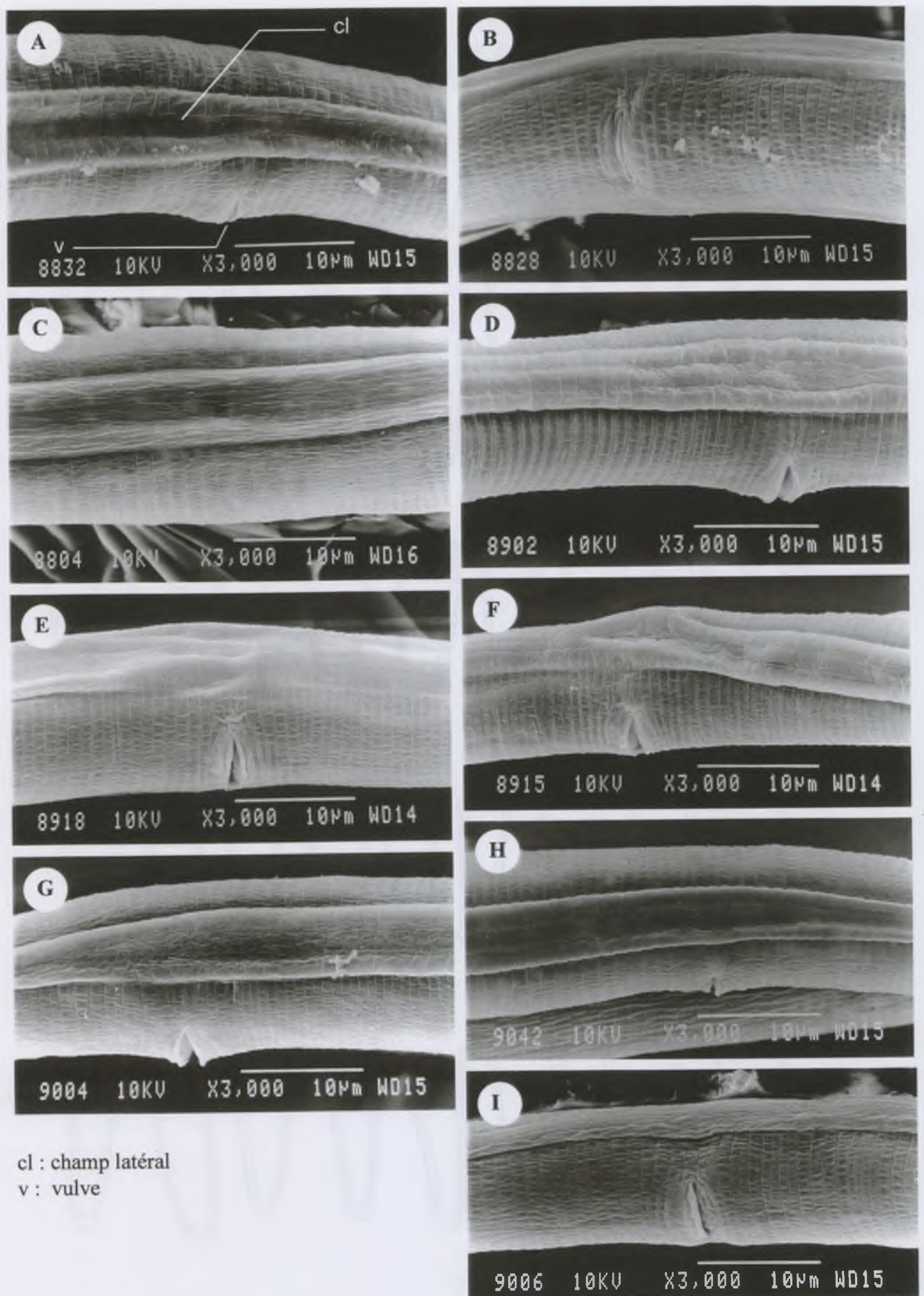
*Forme de l'extrémité distale de la partie postérieure des femelles :*

L'extrémité distale des parties postérieures de femelles des trois isolats Moca (n = 46) ; Chamtaca (n = 42) et Chitalon (n = 36) est représentée sur les figures 3.6-3.11.

Selon la terminologie de Frederick & Tarjan (1989) (annexe 7), pour les deux isolats Chamtaca et Chitalon, les femelles présentent une partie postérieure de forme plutôt cylindrique ou subcylindrique. La majorité des femelles ont une extrémité distale de la partie postérieure de type tronqué, ce phénotype est observé pour 81 et 69% des femelles des isolats Chamtaca et Chitalon, respectivement. Les autres phénotypes observés pour l'extrémité distale des parties postérieures de femelles sont : hémisphérique : 17% et 28%, ou subhémisphérique : 2% et 3%, respectivement pour ces deux mêmes isolats.

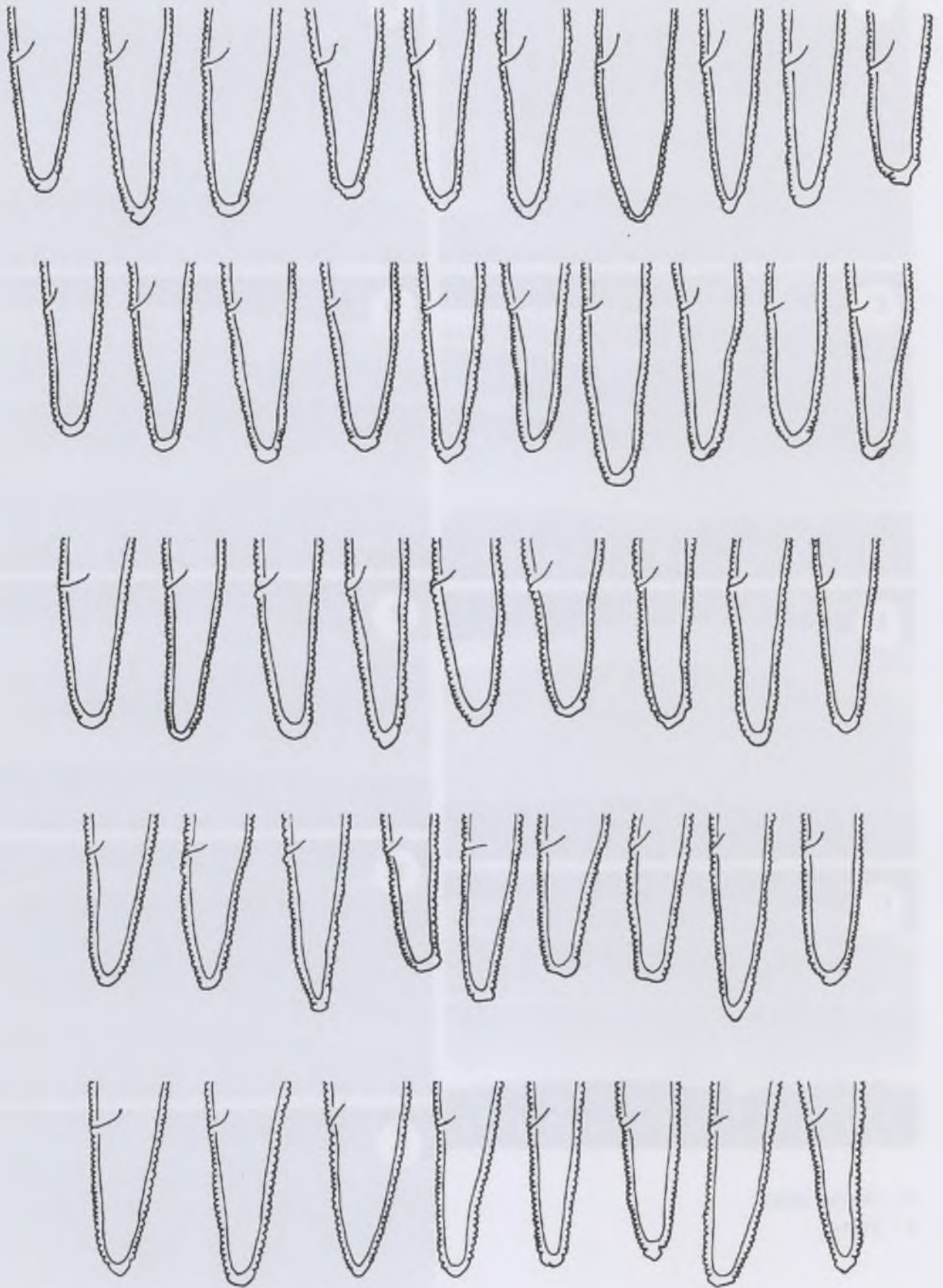
Pour l'isolat Moca, par contre, la partie postérieure des femelles est plutôt de forme conoïde et le plus fréquemment avec une extrémité distale de type subhémisphérique : 54% ou franchement pointue : 35%. Le type tronqué, lui n'est observé que chez 9% des femelles et le type hémisphérique chez 2% de celles-ci.



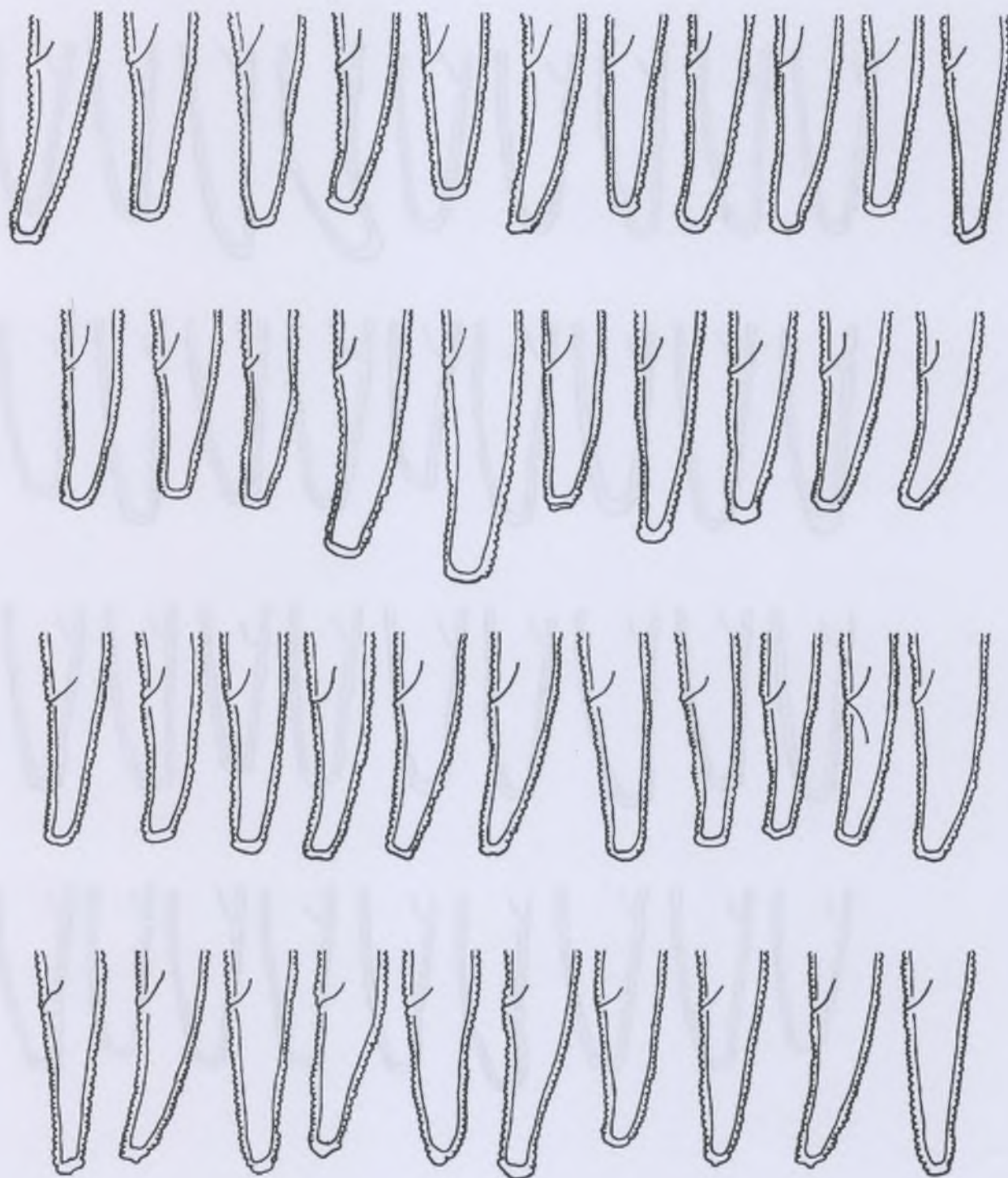


**Figure 3.5.** Vues au microscope électronique à balayage de la région vulvaire de femelles d'isolats de *Pratylenchus* avec les champs latéraux. Isolats Moca (A-C) ; Chitalon (D-F) et Chamtaca (G-I)



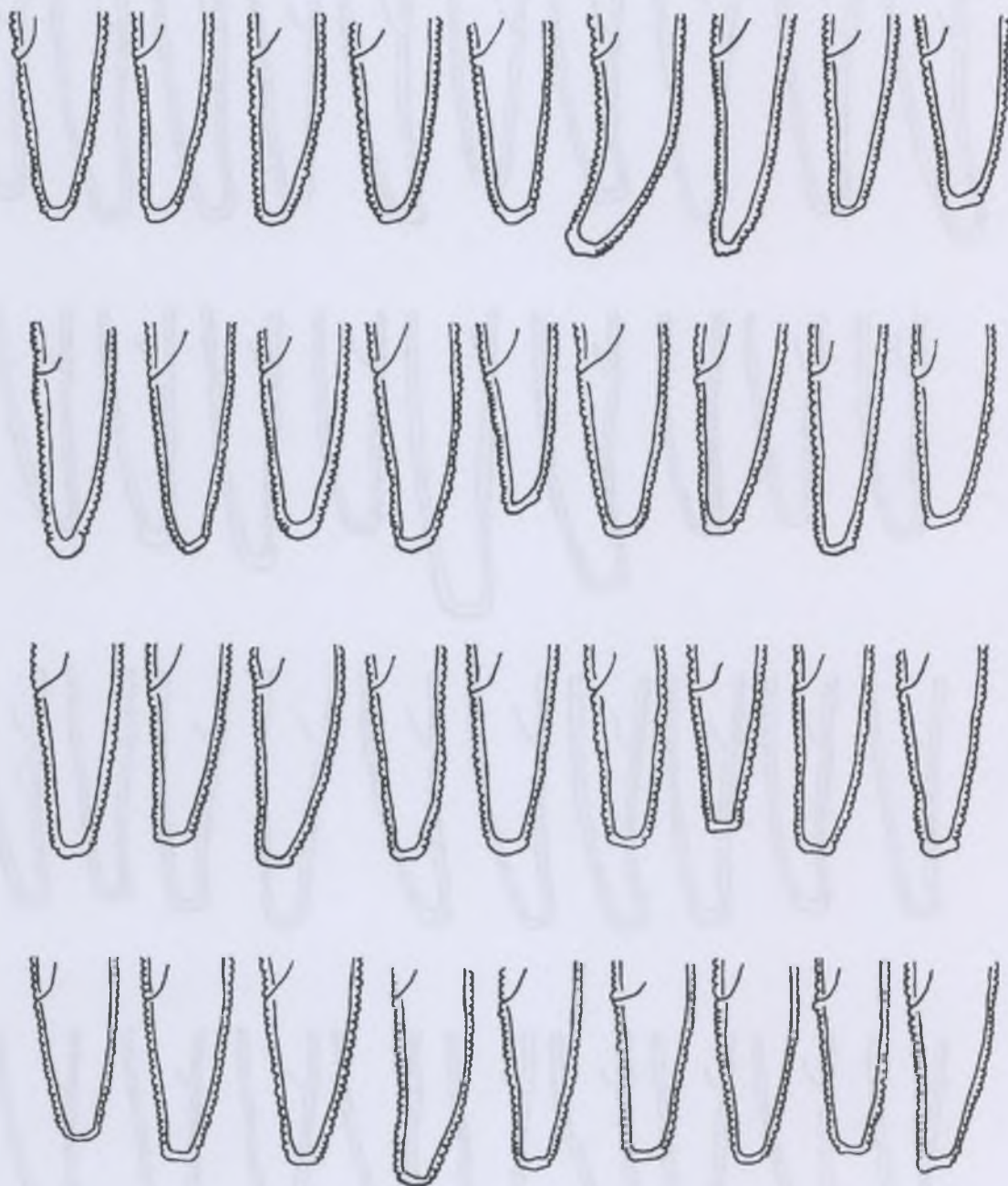


**Figure 3.6.** Profils des parties postérieures de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Moca.



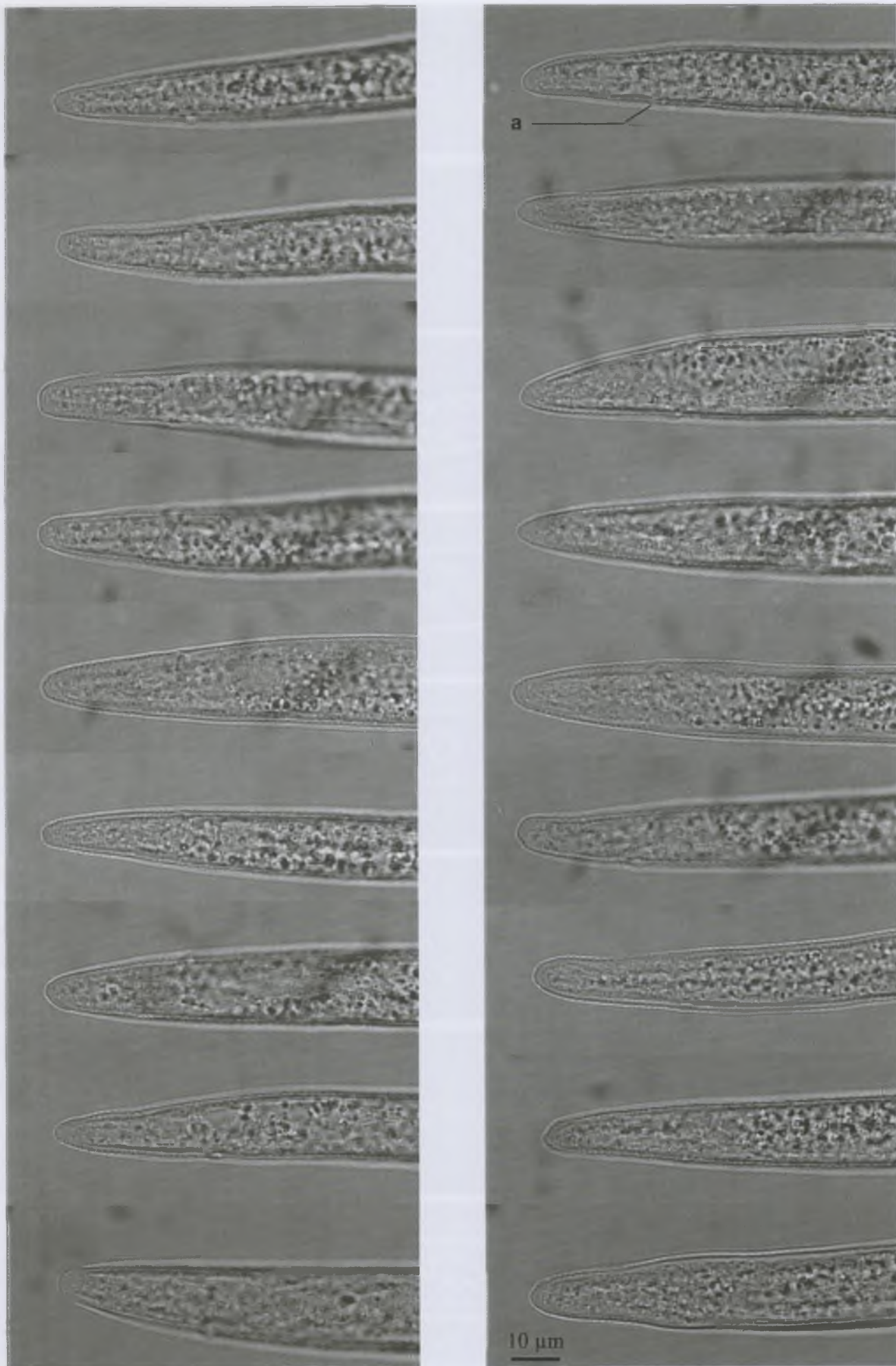
**Figure 3.7.** Profils des parties postérieures de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Chamtaca.





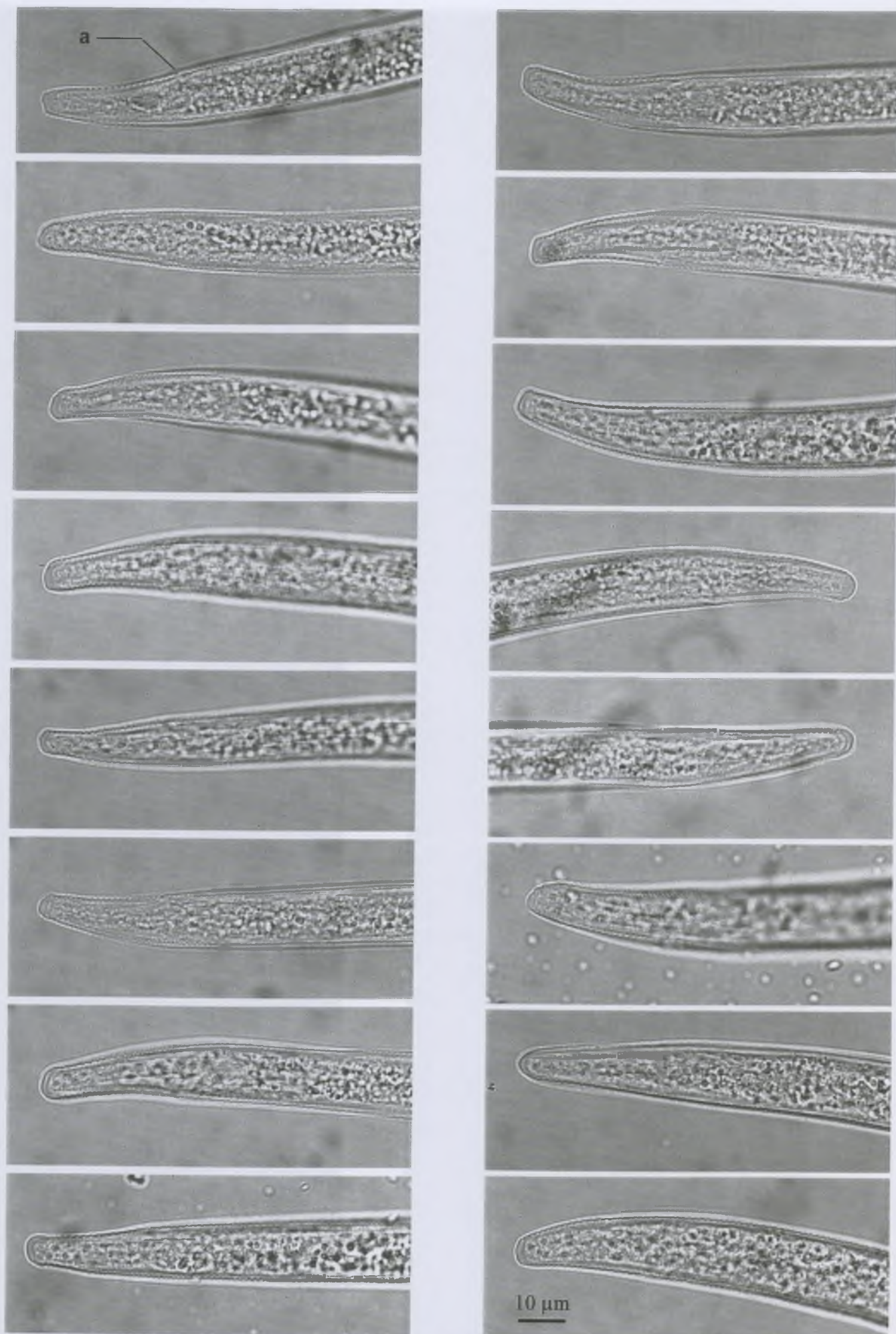
**Figure 3.8.** Profils des parties postérieures de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Chitalon.





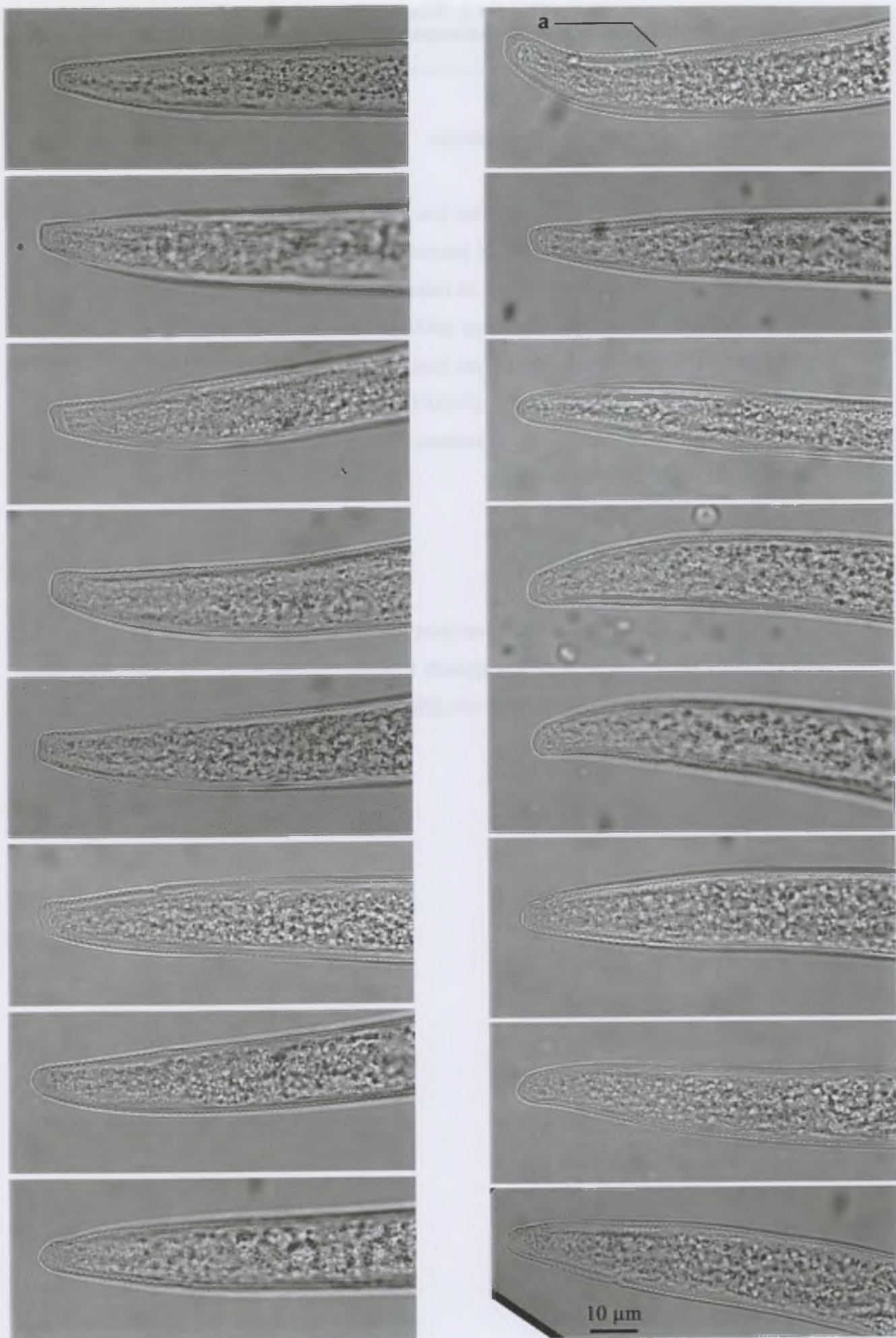
**Figure 3.9.** Partie postérieure de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Moca. a : anus





**Figure 3.10.** Partie postérieure de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Chamtaca. a : anus





**Figure 3.11.** Partie postérieure de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Chitalon. a : anus



*Forme et contenu de la spermathèque :*

La spermathèque est observée dans plus de 95% des cas sur l'ensemble des trois isolats. A l'exception d'une spermathèque qui paraissait vide, toutes les autres étaient pleines. La spermathèque est extrêmement variable en taille et dans la forme pour les trois isolats (figures 3.12-3.15). Elle va d'une forme totalement sphérique à une forme ovale allongée ou bien encore une forme rectangulaire. Le rapport moyen largeur/longueur de la spermathèque est similaire et égal à environ 1,23 pour les trois isolats ( $P \leq 0,05$ ) mais est assez variable d'un individu à l'autre. Les coefficients de variation de ce paramètres sont de 19, 15 et 24% pour les isolats Moca, Chamtaca et Chitalon, respectivement.

*Observation de l'hémizonion :*

L'hémizonion est facile à observer pour l'isolat Chamtaca et encore plus pour l'isolat Moca chez lequel cette ornementation apparaît toujours très clairement. Par contre dans le cas de l'isolat Chitalon, son observation est très difficile.

Partie antérieure



**Figure 3.12.** Formes des spermathèques de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Moca.

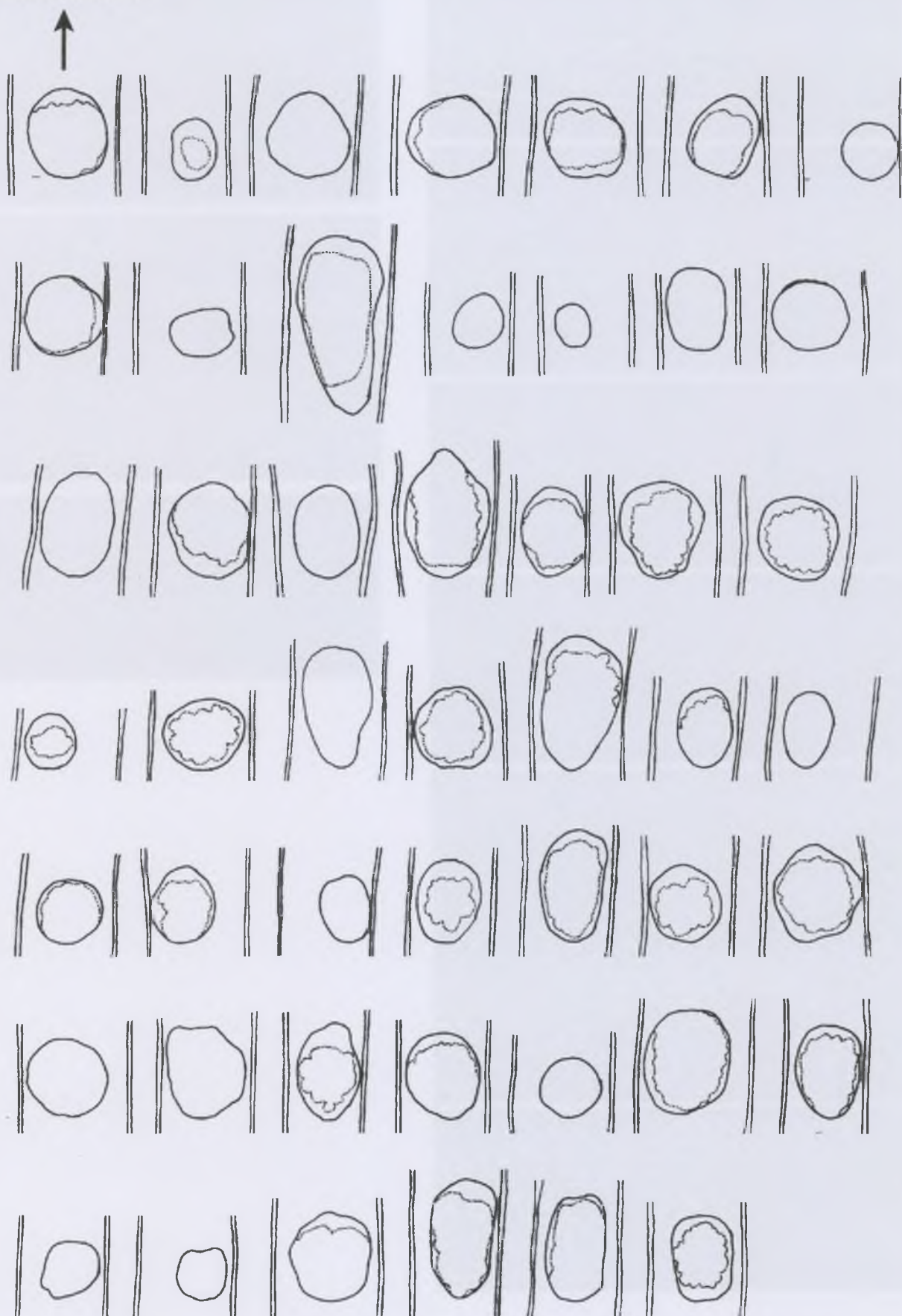
Partie antérieure



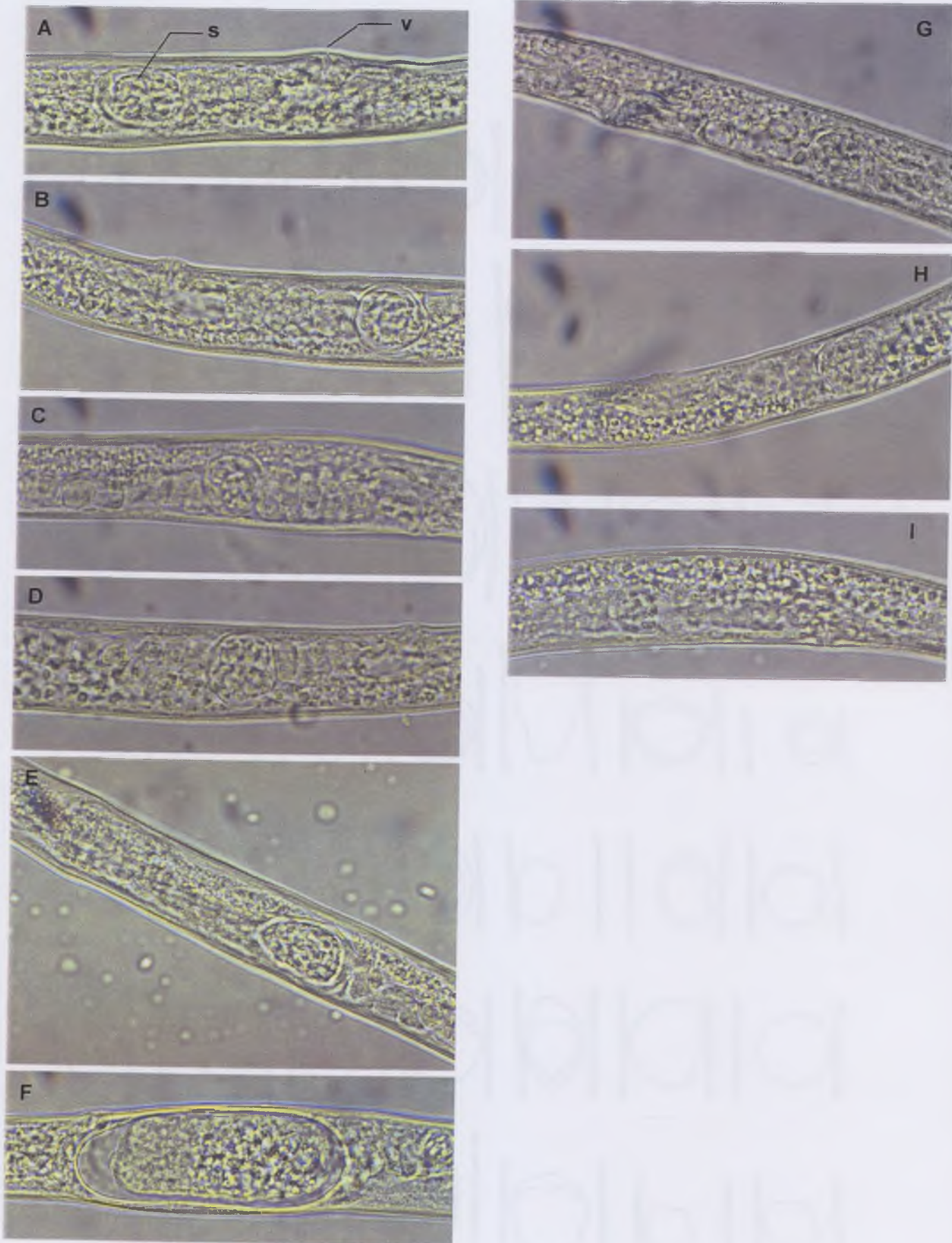
**Figure 3.13.** Formes des spermathèques de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Chamtaca.



Partie antérieure



**Figure 3.14.** Formes des spermathèques de femelles de *Pratylenchus* de l'isolat Chitalon.



**Figure 3.15.** Région vulvaire de femelles de *Pratylenchus* montrant la variabilité de la forme et taille de la spermathèque. A-F : isolat Chitalon (F : présence d'un oeuf) ; G-H : isolat Chamtaca ; I : isolat Moca. s : spermathèque ; v : vulve.



### **1.1.2. Discussion**

#### *Configuration du premier anneau céphalique (figures 3.1-3.2.) :*

La configuration lisse du premier anneau céphalique des femelles des isolats Chamtaca et Chitalon correspond au type I selon la nomenclature de Corbett & Clark (1983) (tableau 3.1).

Différentes populations identifiées comme *P. coffeae*, prélevées sur différents hôtes dans différentes régions du monde ont également montré au MEB une configuration similaire de type I de leur premier anneau céphalique. Il s'agit de populations parasitant : divers hôtes au Japon (Momota, 1978) -Il s'agit donc dans ce cas d'une observation antérieure à Corbett et Clark, 1983 et donc sans connaissance de leur nomenclature- ; *Citrus lemon* (L.) Burm. f. en Floride (Corbett & Clark, 1983; Inserra *et al.*, 1998), au Brésil et en Oman (Duncan *et al.*, 1999) ; *Zea mays*, *Bambusa* sp. et *Ipomoea batatas* au Japon, à Nagano, Okinawa et Saitama, respectivement (Mizukubo, 1992a) ; *Coffea* sp. dans la partie orientale de Java (cinq populations prélevées dans cinq provinces différentes), localité type de *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) et au Brésil (Sao Paulo) (Duncan *et al.*, 1999) ; *Musa* sp. au Ghana, Honduras, Costa Rica et Malaisie (Duncan *et al.*, 1999) ; et *Dioscorea* sp. aux Antilles et au Brésil (Duncan *et al.*, 1999). Concernant les populations brésiliennes prélevées sur *Citrus* sp. et *Coffea* sp., il pourrait cependant s'agir d'une espèce différente de *P. coffeae* d'après leur analyse morphométrique et génomique (Duncan *et al.*, 1999).

Différentes populations de *P. loosi* présentent aussi cette configuration du type I. Ce sont des populations prélevées sur : *Camellia sinensis* au Sri Lanka (Corbett & Clark, 1983 [topotype] ; Duncan *et al.*, 1999) ; *Sorghum vulgare* au Sénégal (Baujard *et al.*, 1990) ; *Paspalum notatum* et *Panicum hemitomon* en Floride (Inserra *et al.*, 1996). Cette configuration de type I a également été observée par Mohotti (1998) pour différents isolats de *P. loosi* prélevés sur divers hôtes à travers le monde (Fidji, Floride, Iran, Japon, Afrique de l'Ouest, Sri Lanka, Guatemala) dont l'isolat Buena Vista (Guatemala). L'observation d'une configuration de type I pour cet isolat est en contradiction avec nos observations et celles de Duncan *et al.* (1999). Par ailleurs, ces derniers auteurs remettent en cause l'appartenance à l'espèce *P. loosi*, des deux populations prélevées en Floride par Inserra *et al.* (1996) du fait des différences que présentent ces deux populations sur le plan morphométrique et génomique vis à vis de la population topotype de *P. loosi*.



**Tableau 3.1.** Synopsis des observations au microscope électronique à balayage de la configuration du premier anneau céphalique des femelles de quatre isolats de *Pratylenchus* prélevés sur caféiers au Guatemala et de différents autres isolats prélevés en régions tropicales ou subtropicales de *P. coffeae* et d'autres espèces morphologiquement proches, et de leur appartenance aux groupes de Corbett & Clark (1983).

Espèce	Plante hôte	Origine géographique	Auteurs	Appartenance aux groupes de Corbett & Clark, 1983
<b>Chitalon et Chamtaca</b>				Groupe I
..... <i>Coffea</i> spp.		Guatemala	Villain <i>et al.</i> (1998)	.....
<b>Moca et Buena Vista</b>				Groupe II
				-----
<i>P. loosi</i>	<i>Camellia sinensis</i>	Sri Lanka	Corbett & Clark (1983) ; Duncan <i>et al.</i> (1999)	Groupe I
<i>P. loosi</i>	<i>Sorghum vulgare</i>	Sénégal	Baujard <i>et al.</i> (1990)	Groupe I
<i>P. loosi</i>	<i>Paspalum notatum</i> , <i>Panicum hemitomon</i>	Floride	Insera <i>et al.</i> (1996) ; Duncan <i>et al.</i> (1999)	Groupe I
<i>P. coffeae</i>	<i>Citrus</i> sp	Floride Oman	Corbett & Clark (1983) ; Insera <i>et al.</i> (1998) ; Duncan <i>et al.</i> (1999) Duncan <i>et al.</i> , 1999	Groupe I
<i>P. coffeae</i>	<i>Dioscorea</i> spp.	Martinique ; Brésil ; Puerto Rico	Duncan <i>et al.</i> , 1999	Groupe I
<i>P. coffeae</i>	Divers hôtes	Japon	Momota (1978)	Groupe I
<i>P. coffeae</i>	<i>Zea mays</i> , <i>Bambusa</i> sp. <i>Ipomoea batatas</i> , <i>Oriza sativa</i>	Japon	Mizukubo (1992)	Groupe I
<i>P. coffeae</i>	<i>Coffea</i> spp.	Java ; Sao Paolo, Brésil	Duncan <i>et al.</i> (1999)	Groupe I
				-----
<i>P. coffeae</i> (?) Néotype	<i>Coffea</i> spp.	Java	Insera <i>et al.</i> (1998) (Collecte: Sherr & Allen, 1953)	Groupe II
<i>P. pseudocoffeae</i> <b>Paratypes et topotypes</b>	<i>Artemisia</i> sp. et <i>Chrysanthemum</i> sp.	Japon	Mizukubo (1992) ; Insera <i>et al.</i> , 1998	Groupe II
<i>P. pseudocoffeae</i>	<i>Aster</i> sp.	Floride	Insera <i>et al.</i> , 1998 ; Duncan <i>et al.</i> (1999)	Groupe II
<i>Pratylenchus</i> sp. ( <i>P. gutierrezi</i> ?)		Costa Rica ; Guatemala (Buena Vista)	Insera <i>et al.</i> , 1998 ; Duncan <i>et al.</i> (1999)	Groupe II
<i>P. gutierrezi</i> Topotypes	<i>Coffea arabica</i>	Costa Rica	Duncan <i>et al.</i> (1999)	Groupe II
<i>P. gutierrezi</i> Paratypes		Costa Rica	Golden <i>et al.</i> (1992)	Groupe II

Les femelles des isolats Moca et Buena Vista présentent une configuration du premier anneau céphalique typique du groupe II de Corbett & Clark (1983), avec subdivision de ce premier anneau céphalique en secteurs labiaux submédians et latéraux bien séparés.

Diverses populations de *P. gutierrezii* présentent également cette configuration du groupe II de Corbett & Clark (1983) : la population paratype prélevée sur *Coffea* sp. au Costa Rica (plateau central) (Golden *et al.*, 1992) ; deux populations prélevées sur caféiers au Costa Rica dont l'une topotype (plateau central) (Inserra *et al.*, 1998 ; Duncan *et al.*, 1999). L'observation par Inserra *et al.* (1998) et Duncan *et al.* (1999) d'une configuration du premier anneau céphalique de type II pour l'isolat Buena Vista confirme donc nos observations réalisées au MEB sur cet isolat. Celui-ci était initialement référé comme *P. gutierrezii* (Inserra *et al.*, 1998) mais ce statut spécifique est remis en cause par Duncan *et al.* (1999) du fait des différences morphologiques et génomiques observées entre cet isolat et la population topotype.

Inserra *et al.* (1998) ont également observé cette configuration du groupe II de Corbett & Clark (1983) chez un spécimen néotype de *P. coffeae* prélevé sur caféiers en 1952 par Sher & Allen (1953) à Java mais dont la provenance exacte reste incertaine (Ouest de Java) et est probablement éloignée du toponyme (Est de Java) de *P. coffeae* (Zimmermann, 1898). On peut s'interroger sur la réelle appartenance de ce spécimen à l'espèce *P. coffeae* auquel cas il faudrait réviser le statut de la population décrite par Zimmermann (1898) et de toutes les autres populations observées depuis et identifiées comme *P. coffeae*. Par ailleurs, il faut rappeler que les cinq populations de *P. coffeae* également prélevées sur caféiers à Java mais dans la partie orientale de Java présentent le type I de Corbett & Clark (1983) selon Duncan *et al.* (1999). Ces auteurs ont observé une grande similitude morphologique entre cet individu préservé en collection et les deux isolats initialement prélevés sur *Coffea* sp. en Amérique Centrale et plus particulièrement celle provenant du Guatemala (isolat Buena Vista). Une enquête est actuellement en cours pour clarifier le statut des populations de *Pratylenchus* de Java et redéfinir le type de *P. coffeae* (Baujard, communication personnelle).

C'est également cette configuration de type II qui est décrite pour diverses populations de *P. pseudocoffeae* : les deux populations paratypes du Japon prélevées sur *Artemisia feddei* (Nagasaki) et *Chrysanthemum morifolium* (Miayazaki) (Mizukubo, 1992b) ainsi qu'une population prélevée sur *Aster eliotii* en Floride (Inserra *et al.*, 1998).

Une population prélevée au Japon sur *Artemisia princeps* et décrite par Minagawa (1991)

comme *P. yamagutii* n. sp. présente également cette configuration du type II de Corbett & Clark (1983) selon Mizukubo (1992 a).

Par ailleurs, il faut exclure l'appartenance des deux isolats Moca et Buena Vista à l'espèce *P. loosi* contrairement à l'une des identifications de l'isolat Buena Vista qui avait été faite antérieurement (Anzueto & Sarah, 1992 ; Mohotti, 1998) puisque ces isolats appartiennent tous deux au groupe II de Corbett & Clark (1983) alors que *P. loosi* appartient au groupe I (Corbett & Clark, 1983 ; Baujard *et al.*, 1990 ; Mohotti, 1998 ; Duncan *et al.*, 1999). Cependant Mohotti (1998) a observé pour le même isolat Buena-Vista une configuration du premier anneau céphalique du type I (Corbett & Clark, 1983), ce qui est en contradiction avec nos observations et celles de Duncan *et al.* (1999).

A l'intérieur de chacun des isolats étudiés, les femelles présentent une grande homogénéité de la configuration de leur premier anneau céphalique. Corbett & Clark (1983) relatent une variabilité plus importante de ce caractère entre individus d'une même population et entre populations d'une même espèce. L'homogénéité observée ici pourrait s'expliquer par le fait que les élevages proviennent au départ d'un inoculum ou isolat réduit qui n'est pas forcément représentatif de la diversité présente au sein de la population naturelle de laquelle il a été prélevé. Inserra *et al.* (1998) mentionnent cependant l'existence d'une variabilité concernant la fusion complète ou incomplète entre disque labial et secteurs labiaux submédians pour deux populations de *P. gutierrezi* pourtant élevées sur rondelles de carottes, dont celle du Guatemala qui correspond à l'isolat Buena Vista.

Chez les mâles, la présence des quatre secteurs cunéiformes autour du disque labial pour les isolats Moca et Buena Vista a également été observée par Golden *et al.* (1992) chez les mâles de *P. gutierrezi*. Selon ces mêmes auteurs, ces secteurs cunéiformes correspondent à la position des sensilles céphaliques et constituent un caractère important dans l'identification des espèces de *Pratylenchus*. Inserra *et al.* (1998) décrivent également la présence des quatre mêmes secteurs cunéiformes supportant les sensilles céphaliques chez les mâles d'une population identifiée comme *P. pseudocoffeae* et prélevée sur *Aster* sp. en Floride ainsi que pour deux populations initialement considérées comme appartenant à *P. gutierrezi* et prélevées sur caféiers au Costa Rica et au Guatemala (isolat Buena Vista). Au contraire de Golden *et al.* (1992), Inserra *et al.* (1998)



considèrent ce critère comme non stable du fait de l'absence de cette ornementation sur un certain nombre de mâles pour les trois populations citées.

Un certain dimorphisme sexuel semble tout de même exister au niveau du premier anneau céphalique pour les isolats Moca et Buena Vista. En revanche, Inserra *et al.* (1998) constatent, en dehors de la présence éventuelle des secteurs cunéiformes chez les mâles, une similarité de la configuration du premier anneau céphalique chez les deux sexes de la population de *P. pseudocoffeae* prélevée sur *Aster* sp. en Floride (différenciation des secteurs labiaux latéraux et submédians). L'observation des photos concernant les populations de *P. gutierrezii* présentées par ces mêmes auteurs (Inserra *et al.* (1998) semble également montrer une similarité de la configuration du premier anneau céphalique pour les deux sexes.

La description de la configuration du premier anneau céphalique des mâles fait souvent défaut dans la littérature. Les observations faites dans cette étude tout comme celles faites par Golden *et al.* (1992) et Inserra *et al.* (1998) montrent l'importance des observations de ce paramètre. La multiplication des observations du premier anneau céphalique des mâles pour les espèces bisexuelles de *Pratylenchus* apparaît nécessaire afin d'évaluer la variabilité de ce caractère et sa pertinence dans la reconnaissance morphologique des populations. Pour les espèces bisexuelles de *Pratylenchus*, la configuration du premier anneau céphalique des mâles pourrait donc enrichir la nomenclature de Corbett et Clark (1983) établie selon la seule configuration du premier anneau céphalique des femelles.

#### *Annélation de la capsule céphalique des femelles (figures 3.3):*

L'observation d'un troisième anneau au niveau de la capsule céphalique, chez certains individus, et semblant apparaître suite à la subdivision de l'un des deux anneaux chez les quatre isolats étudiés est également mentionnée par Corbett & Clark (1983) ; Baujard *et al.* (1990) et Mizukubo (1992b) pour différentes espèces de *Pratylenchus* spp. Corbett & Clark (1983) ainsi que Baujard *et al.* (1990) préconisent beaucoup de précautions dans l'utilisation du nombre d'anneaux de la capsule céphalique en tant que critère déterminant pour l'identification spécifique au sein du genre *Pratylenchus*. Mizukubo (1992b) qui lui a observé cette variabilité chez un complexe de populations de *P. coffeae*, *P. pseudocoffeae* et *Pratylenchus* sp. préconise le dénombrement des anneaux céphaliques sur les deux côtés de la tête.

*Ornementation des champs latéraux (figures 3.5) :*

L'importante variabilité de l'ornementation des champs latéraux ici observée est en accord avec les observations antérieurement réalisées par Corbett & Clark (1983) et par Baujard *et al.* (1990) sur différentes espèces du genre *Pratylenchus*. La dilatation du corps à certains niveaux, probablement due à la présence d'oeufs à l'intérieur du corps, fait apparaître d'autres bourrelets, les champs latéraux semblant fonctionner à la manière d'un soufflet. De ce fait, l'ornementation des champs latéraux n'apparaît pas comme un critère stable et donc fiable pour l'identification spécifique au sein du genre *Pratylenchus* comme le suggéraient déjà Corbett & Clark (1983) ainsi que Baujard *et al.* (1990).

En revanche l'étude des champs latéraux en coupe transversale devrait être réalisée, une spécificité de la forme et de la couche médiane vacuolaire de ces derniers ayant été observée au microscope électronique à transmission chez *P. brachyurus*, *P. loosi* et *P. sefaensis* (Mounport *et al.*, 1990).

*Forme de l'extrémité distale de la partie postérieure des femelles (figure 3.4 ; 3.6-3.11) :*

L'observation au MO d'un certain nombre d'individus de chaque isolat (Moca: n = 46 ; Chamtaca: n = 42 ; Chitalon: n = 36) montre qu'il existe une importante variabilité de la forme de l'extrémité distale de la partie postérieure des femelles à l'intérieur de chacun de ces trois isolats. Cette variabilité a déjà été reportée chez *P. brachyurus* et *P. coffeae* par Tarjan & Frederick (1978). Mais cette variabilité apparaît avec des intensités différentes suivant les populations étudiées. Roman & Hirschmann (1969) reportent une faible variabilité de ce caractère pour ces deux mêmes espèces. Malgré la variabilité de la forme de la partie postérieure des femelles observée dans cette étude, il apparaît néanmoins un phénotype majeur de cette partie du corps des femelles pour chacun des isolats étudiés comme décrit ci-après.

Pour les isolats Chamtaca et Chitalon, on observe un même phénotype prédominant des parties postérieures de femelles, à savoir une partie postérieure de forme subcylindrique avec une extrémité distale tronquée ou largement arrondie. C'est également ce phénotype qui apparaît pour les femelles observées au MEB et appartenant à ces deux isolats. Ce phénotype est également observé chez différentes populations de *P. coffeae* : population prélevée sur *Aglaonema* sp. en

Floride (Roman & Hirshmann, 1969) ; spécimens de la USDA Nematode Collection (Handoo & Golden, 1989) ; populations prélevées sur *Citrus* spp. en Floride (Tarjan & Frederick, 1978 ; Corbett & Clark, 1983; Inserra *et al.*, 1996) ; redescription de l'espèce *P. coffeae* selon Siddiqi (1972), Loof (1978 et 1991). Ce phénotype est également observé chez les femelles d'une population initialement identifiée comme *P. loosi* prélevée sur *Fragaria* sp. (Mohotti, 1998). Le statut spécifique de cette population est toute fois remis en cause par le même auteur.

Le profil de ce phénotype correspond également à celui observé pour *P. panamaensis* (Siddiqi *et al.*, 1991). Il est cependant observé un aspect crénelé de l'extrémité distale chez les femelles de cette espèce et qui n'est pas observé chez les isolats Chamtaca et Chitalon. Cependant l'ornementation en rides des extrémités distales des parties postérieures de femelles des isolats Chitalon et Chamtaca mise en évidence à l'observation au MEB, pourrait donner au microscope optique l'apparence d'une annélation. Cette observation est également faite par Inserra *et al.* (1998) pour deux populations de *P. gutierrezi*.

Pour l'isolat Moca, le phénotype prédominant chez les femelles, est une partie postérieure de forme plutôt conoïde avec une extrémité distale subhémisphérique à "grossièrement" pointue. Ce phénotype des femelles de l'isolat Moca est également observé au MEB. Mais c'est aussi le même phénotype qui apparaît chez les femelles de l'isolat Buena Vista qui ont été observées au MEB. Ces observations concordent avec celles de Mizukubo (1992a) sur les femelles de *P. pseudocoffeae* prélevées au Japon. Siddiqi (1972), Loof (1978, 1991) et Mohotti (1998) observent également ce genre de phénotype chez les femelles de *P. loosi*. D'autres populations de *P. loosi* prélevées sur *Camellia* sp. (Corbett & Clark, 1983), sur *Sorghum vulgare* au Sénégal (Baujard *et al.*, 1990) ou sur *Paspalum notatum* et *Panicum hemitomon* en Floride (Inserra *et al.*, 1996), présentent aussi une forme générale de l'extrémité distale des parties postérieures de femelles similaire à celle décrite précédemment. C'est un des facteurs qui a conduit à une identification de l'isolat Buena Vista comme *P. loosi* (Anzueto *et al.*, 1992 ; Anzueto, 1993).

La forme (et sa variabilité) des parties postérieures de femelles de l'isolat Buena Vista observée par Inserra *et al.* (1998) et Mohotti (1998) n'est pas décrite en détail. Inserra *et al.* (1998) ne font mention que d'une terminaison des parties postérieures lisse pour 70% des femelles. Mohotti (1998) quant à lui, décrit une forme plutôt arrondie des parties postérieures de femelles qu'il a observées.



Malgré l'existence d'un phénotype prédominant de l'extrémité distale des parties postérieures des femelles au sein de chaque isolat, la variabilité de ce caractère et son analyse subjective puisque basée sur une simple appréciation visuelle, obligent à utiliser ce caractère avec précaution. Il ne doit en aucun cas être utilisé comme unique ou principal critère de classification. Ceci contredit les observations de Loof (1991) qui considère la forme des parties postérieures de femelles comme un caractère assez fiable pour l'identification des espèces du genre *Pratylenchus*.

*Forme et contenu de la spermathèque (figures 3.12-3.15) :*

La forme de la spermathèque, extrêmement variable en forme et en taille au sein de chacun des trois isolats, ne constitue absolument pas un critère fiable pour l'identification. Ceci vient à l'encontre des observations de Roman & Hirschmann (1969) qui préconisent son utilisation comme critère d'identification. La présence systématique d'une spermathèque pleine chez les femelles laisse supposer qu'il existe pour ces trois isolats, un mode de reproduction amphimictique.

*Observation de l'hémizonion :*

La difficulté d'observation de l'hémizonion chez l'isolat Chitalon est également mentionnée par Roman et Hirschmann (1969) chez différentes espèces de *Pratylenchus* spp. dont *P. coffeae*. Il serait donc nécessaire de multiplier les observations de ce caractère chez différentes populations de *Pratylenchus* afin de confirmer son intérêt dans la reconnaissance de certaines espèces.

## **1.2. Etude morphométrique de trois isolats**

### **1.2.1. Résultats**

#### *Etude morphométrique des femelles:*

Pour les trois isolats étudiés : Moca, Chamtaca et Chitalon, les descripteurs morphométriques, mesurés ou calculés d'après les indices de De Man ( $a$ ,  $b$ ,  $b'$ ,  $c$  et  $c'$ ), apparaissent dans le tableau 3.2. Les matrices de corrélation entre descripteurs morphométriques mesurés et calculés ont été construites pour chaque isolat (tableau 3.3). Les distances de l'extrémité antérieure à l'hémizonide (HZD), à l'hémizonion (HZN) et au pore excréteur (PEX) sont linéairement dépendantes ( $P \leq 0,001$ ) entre elles et ce pour les trois isolats étudiés. De plus, quel que soit l'isolat, ces trois descripteurs sont linéairement corrélés ( $P \leq 0,01$ ) avec la longueur du corps. De ce fait, de ces quatre variables isométriques, seul ce descripteur, longueur du corps ( $L$ ), est conservé pour l'analyse factorielle discriminante (AFD). Certains indices sont également significativement ( $P \leq 0,05$ ) corrélés avec la longueur du corps :

- $b$  et  $b'$  le sont pour les trois isolats
- $a$  l'est pour les isolats Chamtaca et Chitalon
- $c$  l'est pour les isolats Moca et Chitalon

Il est observé de plus une dépendance linéaire significative ( $P \leq 0,05$ ) entre certains de ces descripteurs.  $c$  est corrélé avec  $c'$ , qui eux deux sont corrélés avec NAQ également descripteur relatif à la morphométrie des parties postérieures.

Cependant, du fait de la faible valeur des coefficients de corrélation entre ces descripteurs,  $a$ ,  $b$ ,  $b'$ ,  $c$  et  $c'$  ont été conservés pour réaliser l'AFD.

La longueur du sac post-vulvaire (SPV) présente une très forte variabilité pour chaque isolat (tableau 3.2). Cette variable ne présente donc pas d'intérêt pour l'AFD et n'est donc pas prise en compte.

Les variables utilisées pour l'AFD sont donc au nombre de dix : la longueur du stylet (STY) ; la distance de la base du stylet à l'orifice de la glande dorsale oesophagienne (DGO) ; le nombre d'anneaux de la partie postérieure (NAQ) ; la longueur du corps ( $L$ ) , la position de la vulve en % ( $V$ ) et les indices  $a$ ,  $b$ ,  $b'$ ,  $c$  et  $c'$ .

**Tableau 3.2.** Mensurations ( $\mu\text{m}$ ) des femelles de trois isolats de *Pratylenchus* prélevés sur racines de caféiers et élevés sur rondelles de carottes *in vitro*. Moyenne  $\pm$  Ecart type et (Minima-Maxima).

Mesures	MOCA	CHAMTACA	CHITALON
n	47	53	48
L	524,4 $\pm$ 29,5 (457,9 - 590,8)	482,5 $\pm$ 17,3 (440,4 - 525,9)	464,1 $\pm$ 32,0 (412,5 - 594,2)
a	26,5 $\pm$ 2,1 (21,6 - 30,4)	28,6 $\pm$ 1,8 (23,8 - 32,9)	23,7 $\pm$ 2,6 (16,5 - 29,3)
b	6,6 $\pm$ 0,4 (5,7 - 7,5)	5,9 $\pm$ 0,3 (5,3 - 6,8)	5,8 $\pm$ 0,3 (5,3 - 6,4)
b'	4,6 $\pm$ 0,3 (3,9 - 5,4)	4,0 $\pm$ 0,2 (3,5 - 4,6)	4,2 $\pm$ 0,3 (3,6 - 5,2)
c	19,1 $\pm$ 1,9 (16,1 - 23,8)	18,1 $\pm$ 1,3 (15,4 - 23,1)	18,2 $\pm$ 1,4 (15,3 - 21,2)
c'	2,3 $\pm$ 0,2 (1,7 - 2,9)	2,4 $\pm$ 0,2 (2,0 - 2,8)	2,0 $\pm$ 0,2 (1,7 - 2,4)
V	78,8 $\pm$ 1,0 (76,3 - 80,9)	78,2 $\pm$ 2,1 (74,5 - 87,6)	78,4 $\pm$ 2,0 (71,8 - 82,6)
STY	14,6 $\pm$ 0,5 (13,6 - 16,0)	14,7 $\pm$ 0,7 (12,8 - 15,6)	14,7 $\pm$ 0,7 (12,8 - 16,8)
DGO	2,2 $\pm$ 0,6 (0,8 - 4,0)	2,2 $\pm$ 0,6 (1,2 - 3,2)	1,6 $\pm$ 0,4 (0,8 - 2,8)
NAQ	23,3 $\pm$ 2,0 (19 - 28)	21,6 $\pm$ 2,1 (17 - 25)	19,3 $\pm$ 2,1 (16 - 27)
SPV	22,1 $\pm$ 10,3 (13,6 - 69,6)	22,6 $\pm$ 6,9 (12,8 - 62,4)	21,9 $\pm$ 4,4 (11,2 - 33,6)
LQ	27,6 $\pm$ 2,4 (21,6 - 32,0)	26,8 $\pm$ 1,9 (21,6 - 31,2)	25,6 $\pm$ 1,9 (22,4 - 32,0)
OI	79,7 $\pm$ 5,0 (68,8 - 93,6)	82,5 $\pm$ 3,1 (72,8 - 88,8)	79,9 $\pm$ 4,5 (71,2 - 96,0)
GLA	113,2 $\pm$ 5,6 (99,2 - 124,0)	121,7 $\pm$ 4,9 (109,6 - 132,8)	111,2 $\pm$ 9,1 (92,0 - 152,0)
HZD	79,9 $\pm$ 4,3 (69,6 - 88,8)	73,9 $\pm$ 2,0 (68,0 - 77,6)	69,2 $\pm$ 5,0 (60,0 - 92,8)
HZN	93,0 $\pm$ 5,2 (81,6 - 106,4)	86,5 $\pm$ 3,2 (80,0 - 93,6)	82,9 $\pm$ 5,0 (76,0 - 95,2)
PEX	83,3 $\pm$ 4,3 (72,8 - 92,0)	77,1 $\pm$ 2,5 (69,6 - 84,0)	72,4 $\pm$ 4,9 (64,0 - 96,8)
DAV	19,9 $\pm$ 2,0 (16,8 - 25,6)	16,9 $\pm$ 1,0 (15,2 - 19,2)	19,8 $\pm$ 2,4 (16,8 - 31,2)
DNA	12,2 $\pm$ 1,0 (10,4 - 14,4)	11,3 $\pm$ 0,8 (9,6 - 13,6)	12,9 $\pm$ 0,6 (11,2 - 14,4)

n = nombre de femelles observées. L: longueur du corps ; a, b, b', c, c', V : indices de DeMan (1880) ; STY : longueur du stylet ; DGO : distance de la base du stylet à la glande oesophagienne dorsale ; NAQ : nombre d'anneaux de la queue ; SPV : longueur du sac post-vulvaire ; LQ : longueur de la queue ; OI : distance de l'extrémité antérieure à la limite oesophage-intestin ; GLA : Distance de l'extrémité antérieure à l'extrémité postérieure des glandes oesophagiennes ; HZD : distance de l'extrémité antérieure à l'hémizonide ; HZN : distance de l'extrémité antérieure à l'hémizonion ; PEX : distance de l'extrémité antérieure au pore excréteur ; DAV : plus grand diamètre du corps (en avant de la vulve) ; DNA : diamètre du corps au niveau de l'anus.



**Tableau 3.3.** Matrices de corrélation de quatorze descripteurs morphométriques pour trois isolats de *Pratylenchus*. Les coefficients de corrélation en gras sont significativement ( $P \leq 0,05$ ) différents de zéro et le sont pour les trois isolats en encadré (pointillés).

Moca	STY	DGO	HZD	HZN	PEX	SPV	NAQ	L	V	a	b	b'	c	c'
STY	1.00													
DGO	-0.05	1.00												
HZD	0.22	0.02	1.00											
HZN	0.21	0.17	<b>0.85</b>	1.00										
PEX	0.26	0.04	<b>0.97</b>	<b>0.84</b>	1.00									
SPV	0.19	0.09	0.23	0.25	0.24	1.00								
NAQ	-0.15	-0.07	-0.06	0.00	-0.05	-0.05	1.00							
L	-0.04	0.04	<b>0.71</b>	<b>0.65</b>	<b>0.67</b>	0.15	0.09	1.00						
V	0.03	0.18	<b>0.38</b>	0.28	<b>0.35</b>	-0.24	-0.16	0.18	1.00					
a	-0.07	0.08	0.05	0.17	0.05	-0.18	-0.13	0.03	-0.01	1.00				
b	-0.35	0.12	0.06	0.04	-0.00	-0.11	0.02	<b>0.49</b>	0.05	-0.16	1.00			
b'	-0.17	-0.04	0.20	0.27	0.18	-0.05	-0.08	<b>0.61</b>	0.11	-0.10	<b>0.51</b>	1.00		
c	0.26	-0.07	<b>0.49</b>	<b>0.44</b>	<b>0.43</b>	0.15	<b>-0.38</b>	<b>0.43</b>	<b>0.31</b>	0.26	0.09	<b>0.30</b>	1.00	
c'	-0.19	-0.04	<b>-0.34</b>	<b>-0.29</b>	-0.28	-0.23	<b>0.31</b>	-0.24	<b>-0.37</b>	0.03	-0.24	-0.24	<b>-0.75</b>	1.00

Chamtaca	STY	DGO	HZD	HZN	PEX	SPV	NAQ	L	V	a	b	b'	c	c'
STY	1.00													
DGO	0.09	1.00												
HZD	-0.03	-0.19	1.00											
HZN	-0.02	0.00	<b>0.74</b>	1.00										
PEX	-0.07	-0.12	<b>0.86</b>	<b>0.68</b>	1.00									
SPV	0.20	0.19	0.04	-0.08	0.00	1.00								
NAQ	0.02	-0.13	-0.00	0.06	0.13	-0.01	1.00							
L	<b>0.32</b>	-0.00	<b>0.44</b>	<b>0.47</b>	<b>0.35</b>	0.10	0.15	1.00						
V	0.21	-0.09	-0.05	0.06	-0.07	0.01	-0.15	-0.10	1.00					
a	0.05	0.02	0.09	0.23	0.17	-0.06	-0.04	<b>0.32</b>	0.08	1.00				
b	0.21	-0.10	0.16	0.05	-0.00	0.11	0.08	<b>0.67</b>	-0.15	0.26	1.00			
b'	0.28	-0.01	0.22	0.23	0.13	0.25	0.15	<b>0.68</b>	-0.02	<b>0.47</b>	<b>0.42</b>	1.00		
c	0.13	-0.05	-0.12	-0.04	-0.07	0.05	<b>-0.34</b>	0.15	0.11	0.29	0.26	0.06	1.00	
c'	-0.00	0.11	0.01	0.13	-0.02	<b>-0.44</b>	<b>0.32</b>	0.20	0.00	0.15	0.12	0.17	<b>-0.44</b>	1.00

Chitalón	STY	DGO	HZD	HZN	PEX	SPV	NAQ	L	V	a	b	b'	c	c'
STY	1.00													
DGO	-0.05	1.00												
HZD	<b>0.41</b>	<b>0.38</b>	1.00											
HZN	0.35	0.20	<b>0.68</b>	1.00										
PEX	<b>0.40</b>	<b>0.36</b>	<b>0.96</b>	<b>0.69</b>	1.00									
SPV	0.39	-0.09	0.08	0.27	0.08	1.00								
NAQ	0.20	-0.00	0.14	0.08	0.17	-0.02	1.00							
L	<b>0.53</b>	<b>0.33</b>	<b>0.81</b>	<b>0.64</b>	<b>0.76</b>	0.17	<b>0.31</b>	1.00						
V	0.04	-0.10	0.12	-0.11	0.12	-0.21	-0.04	-0.09	1.00					
a	<b>0.40</b>	0.06	<b>0.35</b>	<b>0.45</b>	<b>0.36</b>	0.28	0.12	<b>0.50</b>	-0.15	1.00				
b	<b>0.34</b>	0.09	0.21	0.28	0.14	0.19	<b>0.32</b>	<b>0.55</b>	-0.15	0.15	1.00			
b'	0.25	-0.05	0.01	0.28	-0.05	0.28	0.23	<b>0.34</b>	-0.27	<b>0.30</b>	<b>0.53</b>	1.00		
c	0.13	0.09	<b>0.37</b>	<b>0.42</b>	0.27	0.21	<b>-0.38</b>	<b>0.48</b>	-0.20	0.22	0.13	0.28	1.00	
c'	0.21	0.06	0.13	0.04	0.20	-0.06	<b>0.57</b>	0.28	-0.06	<b>0.34</b>	<b>0.32</b>	0.15	<b>-0.51</b>	1.00

STY : longueur du stylet; DGO : distance de la base du stylet à la glande oesophagienne dorsale; HZD : distance de l'extrémité antérieure à l'hémizonide; HZN : distance de l'extrémité antérieure à l'hémizonion; PEX : distance de l'extrémité antérieure au pore excréteur; SPV : longueur du sac post vulvaire; NAQ : nombre d'anneaux de la queue; L : longueur du corps ; V : position de la vulve (%) ; a, b, b', c et c' : indices de De Man (1880).

La distribution des données pour chacune de ces variables est représentée en boîtes de Box (figure 3.16).

L'analyse de variance montre des différences significatives ( $P \leq 0,001$ ) entre les trois isolats pour chacun des descripteurs à l'exception ( $P \leq 0,05$ ) de STY et de V (tableau 3.4). Les descripteurs les plus discriminants selon l'analyse de variance, pour les trois isolats de l'étude, sont :

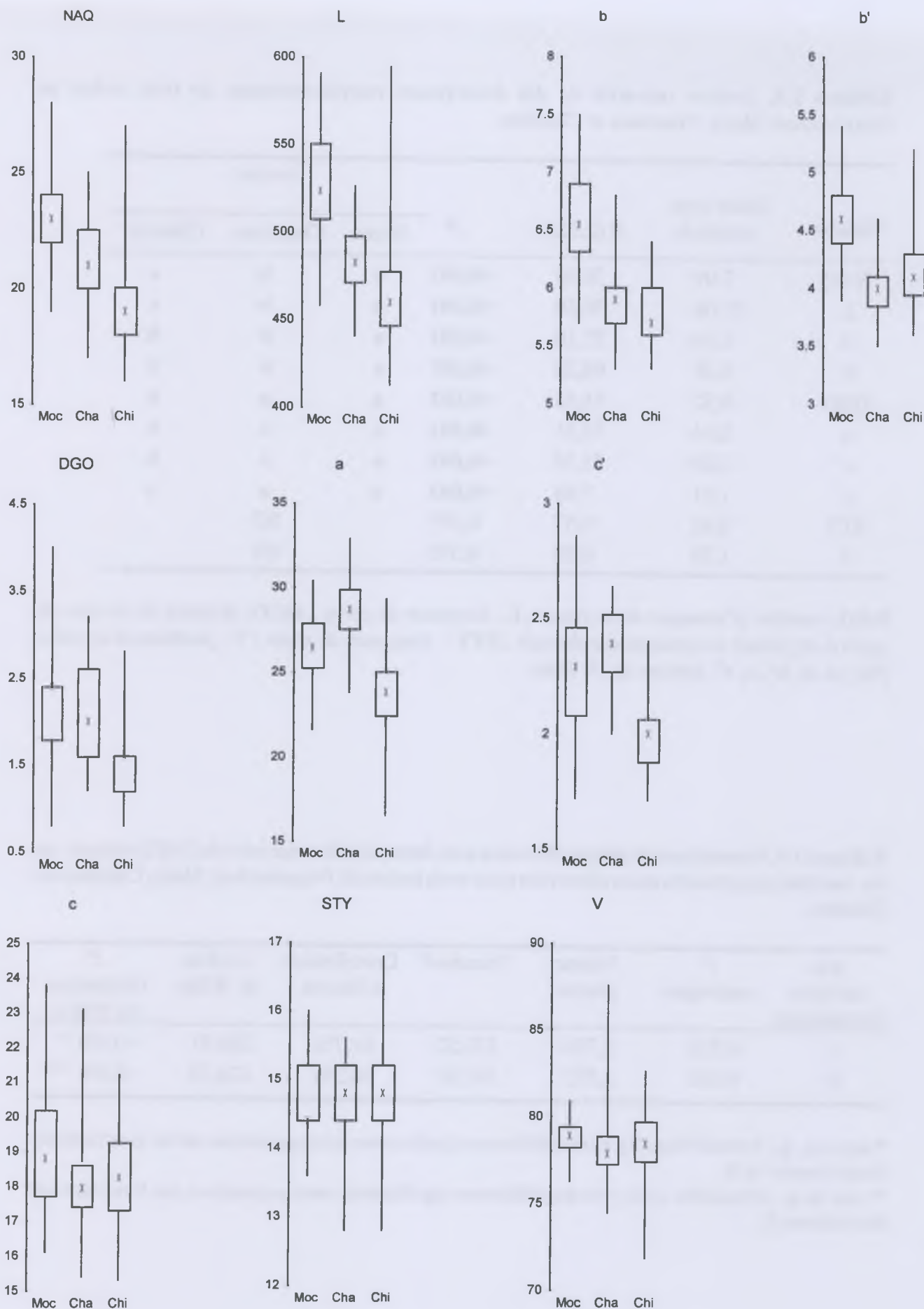
- L ( $F = 60,5$ ) et dans une moindre mesure NAQ ( $F = 38,68$ ). Les longueurs moyennes des trois isolats étudiés sont toutes trois différentes ( $P \leq 0,05$ ).

- b ( $F = 73,18$ ) et b' ( $F = 64,25$ ). Les moyennes de ces deux descripteurs pour l'isolat Moca sont supérieures ( $P \leq 0,05$ ) à celles observées respectivement pour les isolats Chamtaca et Chitalon. Les moyennes observées pour ces deux isolats ne sont pas différentes entre elles respectivement.

- a ( $F = 53,51$ ) et c' ( $F = 53,18$ ) et dans une moindre mesure DGO ( $F = 15,65$ ). Les moyennes de ces trois descripteurs pour l'isolat Chitalon sont inférieures ( $P \leq 0,05$ ) à celles respectivement observées pour les isolats Moca et Chamtaca. Les moyennes observées pour ces deux isolats ne sont pas différentes entre elles respectivement.

La valeur du pseudo- $F$  du premier axe factoriel discriminant égale à 173,52 (tableau 3.5) est donc très supérieure à la plus grande valeur des  $F$  des différents descripteurs et qui est celle observée pour le ratio b ( $F_{(2, 125)} = 73,18$ ) (tableau 3.4). Les différences entre isolats sont significatives ( $P \leq 0,001$ ) sur les deux axes factoriels discriminants également appelés variables canoniques (tableau 3.5). Le premier axe factoriel beaucoup plus discriminant contribue pour 61,3% de l'inertie totale (tableau 3.5). Les corrélations inter-classes entre les deux axes factoriels discriminants et les dix descripteurs utilisés (tableau 3.6 et figure 3.17) montrent que le premier axe est corrélé essentiellement avec : NAQ, L, V, DGO et c'. Le second axe est corrélé avec les trois variables : b', c et surtout STY. Toutes ces corrélations sont positives à l'exception de celle du second axe avec STY.

Les distances  $D^2$  de Mahalanobis entre les trois isolats Moca, Chamtaca et Chitalon sont toutes significativement ( $P \leq 0,001$ ) différentes de 0 (tableau 3.7). Elles diffèrent peu entre elles. Les trois isolats sont donc statistiquement équidistants entre eux dans le plan factoriel. Il existe une forte dispersion des individus de chaque isolat (figure 3.18). Néanmoins cette AFD a permis ici, selon la statistique de Mahalanobis, de distinguer 88,9% des femelles de l'isolat Moca ( $n = 45$ ) (cinq individus sont reclassés dans l'isolat Chamtaca) ; 95,4% des individus de l'isolat Chamtaca



**Figure 3.16.** Représentation en boîtes de Box de dix variables morphométriques pour trois isolats de *Pratylenchus* : Moca (**Moc**) ; Chamtaca (**Cha**) et Chitalon (**Chi**) : longueur du stylet (**STY**) ; distance de la base du stylet à la glande oesophagienne dorsale (**DGO**) ; nombre d'anneaux de la queue (**NAQ**) ; longueur du corps (**L**) et les indices de De Man : **V**, **a**, **b**, **b'**, **c** et **c'**.



**Tableau 3.4.** Analyse univariée de dix descripteurs morphométriques de trois isolats de *Pratylenchus*: Moca, Chamtaca et Chitalon.

Variable	Ecart-type résiduels	F (2,125)	P	Isolats		
				Moca	Chamtaca	Chitalon
NAQ	2,09	38,68	<0,001	a	b	c
L	27,08	60,50	<0,001	a	b	c
b	0,34	73,18	<0,001	a	b	b
b'	0,28	64,25	<0,001	a	b	b
DGO	0,57	15,65	<0,001	a	a	b
a	2,14	53,51	<0,001	a	a	b
c'	0,20	53,18	<0,001	a	a	b
c	1,51	7,98	<0,001	a	a	a
STY	0,62	0,57	0,571		NS	
V	1,79	0,99	0,376		NS	

NAQ : nombre d'anneaux de la queue ; L : longueur du corps ; DGO: distance de la base du stylet à la glande oesophagienne dorsale ; STY : longueur du stylet ; V : position de la vulve (%) ; a, b, b', c, c': indices de De Man.

**Tableau 3.5.** Paramètres statistiques des deux axes factoriels discriminants de l'AFD réalisée sur dix variables morphométriques observées pour trois isolats de *Pratylenchus*: Moca, Chamtaca et Chitalon.

Axe factoriel discriminant	r <sup>2</sup> canonique	Valeur propre	Pseudo-F	Contribution à l'inertie	Lambda de Wilks	P (Statistique de Wilks)
I	0,735	2,776	173,52	61,7%	280,81	<0.001 *
II	0,633	1,723	107,67	38,3%	120,70	<0.001 **

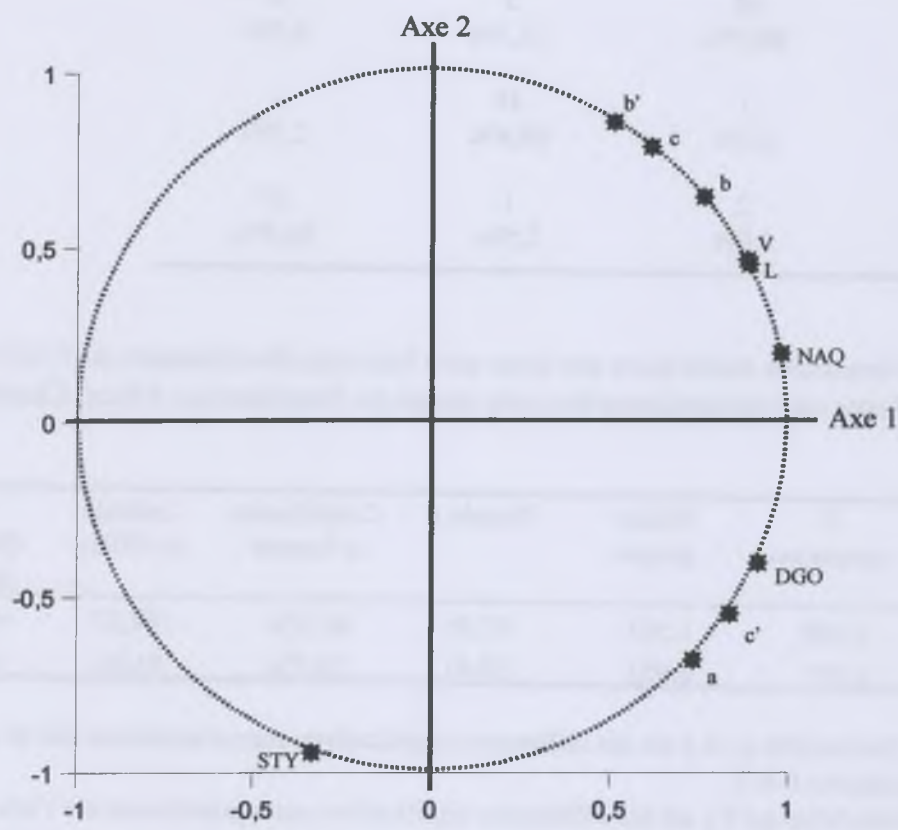
\* test de  $\eta_1 \eta_2$  : Probabilité qu'il y ait des différences significatives entre populations sur les axes factoriels discriminants I et II.

\*\* test de  $\eta_2$  : Probabilité qu'il y ait des différences significatives entre populations sur l'axe factoriel discriminant II.

**Tableau 3.6.** Structure canonique des deux axes factoriels discriminants, combinaisons linéaires de dix variables morphométriques de trois isolats de *Pratylenchus*: Moca, Chamtaca et Chitalon.

	Corrélations totales ( $r^2$ )		Corrélations inter-classes		vecteurs propres	
	Axe 1	Axe 2	Axe 1	Axe 2	Axe 1	Axe 2
STY	0.110	0.890	-0.332	-0.943	-0.064	-0.060
DGO	0.838	0.162	0.916	-0.402	0.178	-0.065
NAQ	0.961	0.039	0.980	0.197	0.307	0.095
L	0.795	0.205	0.892	0.453	-0.080	0.144
V	0.784	0.216	0.885	0.465	0.105	0.024
a	0.539	0.461	0.734	-0.679	0.084	-0.484
b	0.584	0.416	0.764	0.645	0.338	0.138
b'	0.261	0.739	0.511	0.859	-0.028	0.539
c	0.379	0.621	0.616	0.788	0.437	-0.005
c'	0.701	0.300	0.837	-0.547	0.570	-0.277

STY : longueur du stylet ; DGO : distance de la base du stylet à la glande oesophagienne dorsale ; NAQ : nombre d'anneaux de la queue ; L : longueur du corps ; V : position de la vulve (%) ; a, b, b', c, c' : indices de De Man.



**Figure 3.17.** Cercle de corrélations inter-classes de dix variables morphométriques de trois isolats de *Pratylenchus*: Moca, Chamtaca et Chitalon avec les deux axes factoriels discriminants combinaisons linéaires de ces variables (voir tableau 3.5 ci dessus pour abréviations).

**Tableau 3.7.** Distances  $D^2$  de Mahalanobis entre les trois isolats de *Pratylenchus* et probabilités du test de de l’hypothèse nulle pour ces distances  $D^2$ .

	Moca	Chamtaca	Chitalon
Moca	0,0 $P = 1,000$		
Chamtaca	3,72 $P < 0.001$	0,0 $P = 1,000$	
Chitalon	4,41 $P < 0,001$	4,22 $P < 0,001$	0,0 $P = 1,000$

**Tableau 3.8.** Classement des individus des trois isolats de *Pratylenchus* par rapport à leur isolat d’appartenance selon la statistique de Mahalanobis ( $D^2$ ) et pourcentages d’individus correspondants.

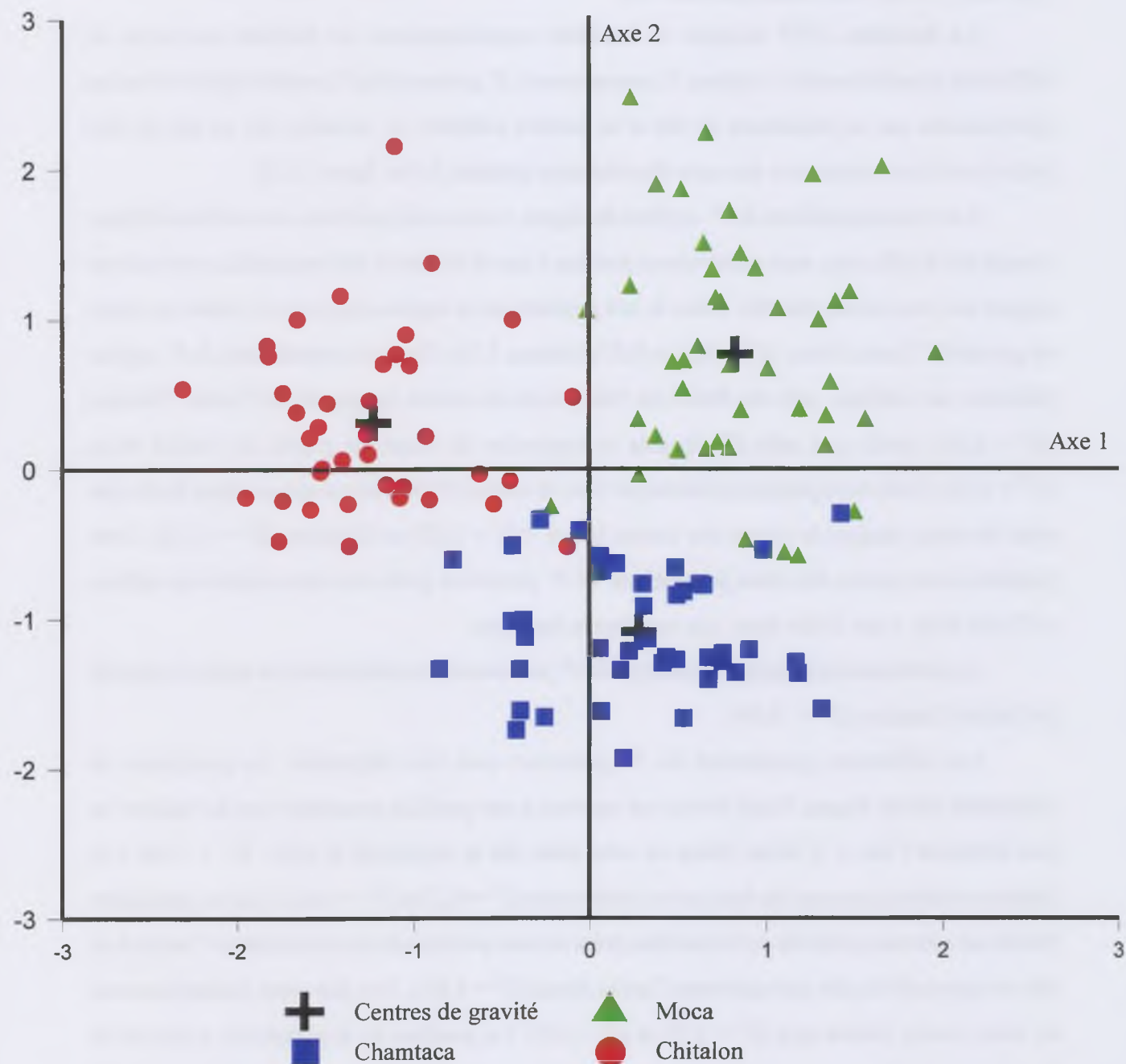
Isolat d'appartenance	Isolat d'affectation		
	Moca (n = 45)	Chamtaca (n = 43)	Chitalon (n = 40)
Moca	40 88,9%	5 11,1%	0 0,0%
Chamtaca	1 2,3%	41 95,4%	1 2,3%
Chitalon	2 5,0%	1 2,5%	37 92,5%

**Tableau 3.9.** Paramètres statistiques des deux axes factoriels discriminants de l’AFD réalisée sur six descripteurs morphométriques des trois isolats de *Pratylenchus*: Moca, Chamtaca et Chitalon.

Axe factoriel discriminant	$r^2$ canonique	Valeur propre	Pseudo $F$	Contribution à l'inertie	Lambda de Wilks	$P$ (Statistique de Wilks)
1	0,600	1,503	93,91	61,3%	194,22	<0,001 *
2	0.487	0.951	59.41	38,7%	81.84	<0.001 **

\* test de  $\eta_1 \eta_2$  : Probabilité qu’il y ait des différences significatives entre populations sur les axes factoriels discriminants 1 et 2.  
\*\* test de  $\eta_2$  : Probabilité qu’il y ait des différences significatives entre populations sur l’axe factoriel discriminant 2.





**Figure 3.18.** Diagramme de dispersion des individus de trois isolats de *Pratylenchus* : Moca (n = 45) ; Chamtaca (n = 43) et Chitalon (n = 40) selon les axes 1 et 2 de l'analyse factorielle discriminante sur les dix variables morphométriques STY, DGO, NAQ, L, V, a, b, b', c et c'

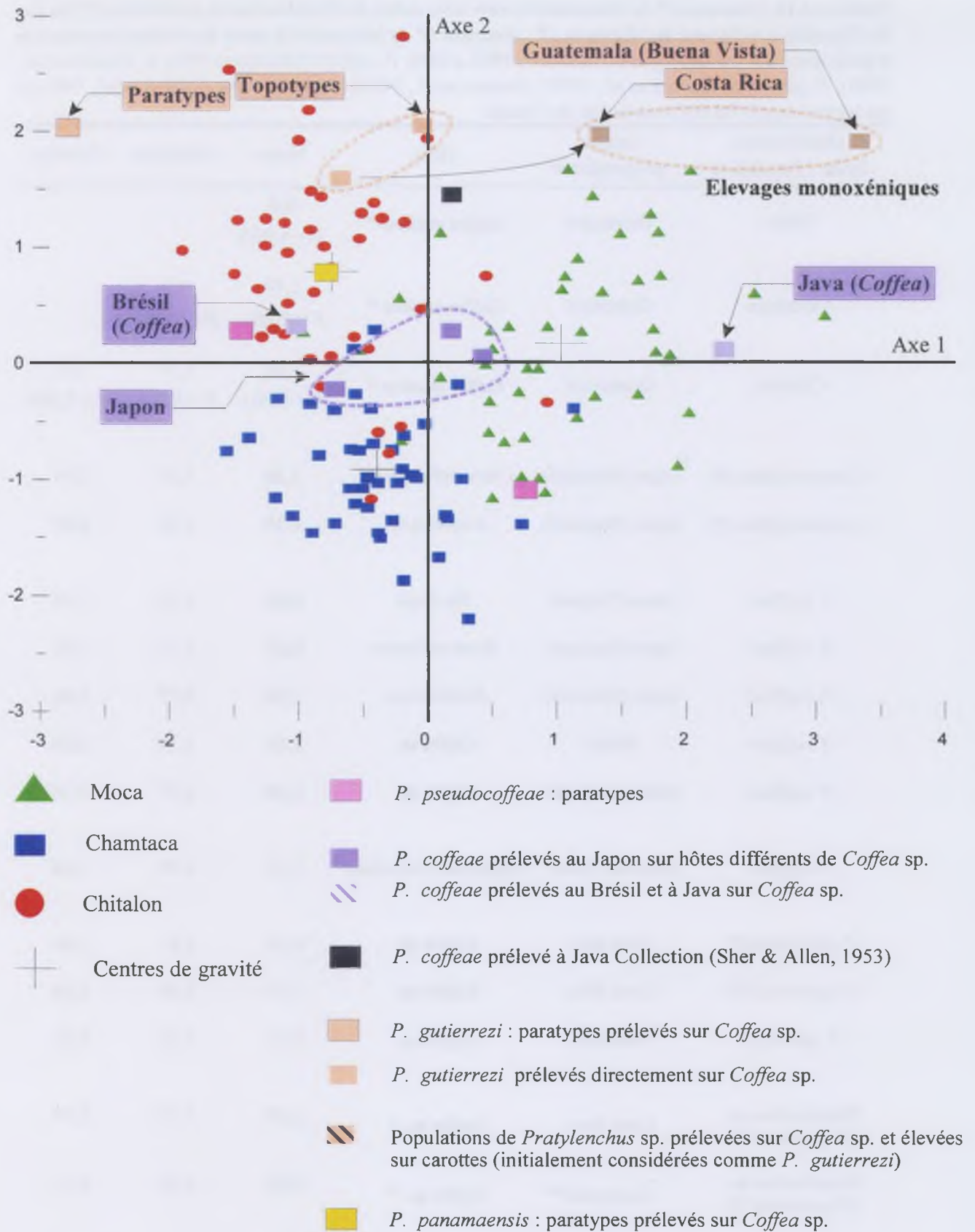
( $n = 43$ ) (un individu est reclassé dans l'isolat Moca et un autre dans l'isolat Chitalon) et 92,5% des individus de l'isolat Chitalon ( $n = 40$ ) (deux individus sont reclassés dans l'isolat Moca et un autre dans l'isolat Chamtaca) (tableau 3.8).

La deuxième AFD incluant en individus supplémentaires les données moyennes de différentes populations de *P. coffeae*, *P. panamaensis*, *P. gutierrezi* et *P. pseudocoffeae* est moins discriminante que la précédente du fait d'un nombre inférieur de variables (six au lieu de dix) participant à la construction des axes discriminants (tableau 3.9 et figure 3.19).

Les trois populations de *P. coffeae* du Japon, toutes trois prélevées sur un hôte différent et autre que *Coffea* spp. sont relativement proches l'une de l'autre et ont une position centrale par rapport aux trois isolats étudiés. Deux de ces populations se rapprochent tout de même du centre de gravité de l'isolat Moca ( $D^2 = 0,62$  et  $0,87$ ) (tableau 3.10). Des trois populations de *P. coffeae* prélevées sur caféiers, celle du Brésil est très proche du centre de gravité de l'isolat Chitalon ( $D^2 = 0,54$ ) tandis que celle d'Indonésie se rapproche du centre de gravité de l'isolat Moca ( $D^2 = 1,25$ ). Enfin la population prélevée par Sher & Allen (1953) à Java a une position limitrophe entre les deux nuages de points des isolats Moca ( $D^2 = 1,53$ ) et Chitalon ( $D^2 = 1,14$ ). Cette population est proche des deux populations de *P. gutierrezi* prélevées directement sur caféiers au Costa Rica, l'une d'elle étant une population topotype.

La position de la population paratype de *P. panamaensis* coïncide avec le centre de gravité de l'isolat Chitalon ( $D^2 = 0,04$ ).

Les différentes populations de *P. gutierrezi* sont très dispersées. La population du Guatemala (isolat Buena Vista) élevée sur carottes a une position excentrée vers les valeurs les plus fortes de l'axe 1. L'isolat Moca est celui dont elle se rapproche la plus :  $D^2 = 2,88$ . Les distances statistiques avec les deux autres isolats sont  $D^2 = 4,23$  et  $D^2 = 4,68$ . L'autre population élevée sur carottes prélevée au Costa Rica présente une position moins excentrée et l'isolat dont elle se rapproche le plus est également l'isolat Moca ( $D^2 = 1,83$ ). Les distances statistiques avec les deux autres isolats sont  $D^2 = 2,39$  et  $D^2 = 3,37$ . La position de la population paratype de *P. gutierrezi* présente une position symétrique à l'isolat Buena Vista par rapport à l'axe 2. Elle a donc également une position très excentrée dans le plan factoriel. Elle est éloignée des deux autres populations de *P. gutierrezi* également prélevées directement sur caféiers et au Costa Rica dont la population topotype. C'est de l'isolat Chitalon que cette population paratype se rapproche le plus ( $D^2 = 2,40$ ). Les distances statistiques avec les deux autres isolats sont  $D^2 = 3,81$  et  $D^2 = 4,26$ . Les deux populations non paratypes du Costa Rica prélevées directement sur caféiers



**Figure 3.19.** Diagramme de dispersion des individus de trois isolats de *Pratylenchus* Moca (n = 45) ; Chamtaca (n = 43) et Chitalon (n = 40) selon les axes 1 et 2 de l'analyse factorielle discriminante sur les six variables morphométriques L, a, b, c, V, STY. Les individus moyens pour ces six variables des populations de *P. gutierrezi* (Golden *et al.*, 1998 ; Inserra *et al.*, 1998 ; Duncan *et al.*, 1999) ; *P. pseudocoffeae* (Mizukubo, 1992, a et b) ; *P. coffeae* (Mizukubo, 1992, a ; Duncan *et al.*, 1999) sont introduits en individus supplémentaires.



**Tableau 3.10.** Distances  $D^2$  de Mahanalobis entre trois isolats de *Pratylenchus* et probabilités ( $P$ ) du test de l'hypothèse nulle pour les distances  $D^2$  ; distances  $D^2$  de Mahanalobis entre les valeurs moyennes de populations de *P. pseudocoffeae* (Mizukubo 1992, a et b), *P. coffeae* (Mizukubo 1992, a ; Duncan *et al.*, 1999), *P. gutierrezi* (Inserra *et al.*, 1998 ; Duncan *et al.*, 1999), *P. panamensis* (Siddiqi *et al.*, 1991) et les centres de gravité des trois isolats de l'étude.

Identification Isolta / Population	Origine géographique	Hôte	Moca	Chamtaca	Chitalon
Moca	Guatemala	<i>Coffea arabica</i> *	0,0 $P = 1,000$		
Chamtaca	Guatemala	<i>Coffea arabica</i> *	1,79 $P < 0,001$	0,0 $P = 1,000$	
Chitalon	Guatemala	<i>Coffea arabica</i> *	1,88 $P < 0,001$	1,74 $P < 0,001$	0,0 $P = 1,000$
<i>P. pseudocoffeae</i> (P)	Japon (Miyasaki)	<i>Chrysanthemum</i> sp.	1,30	1,17	2,41
<i>P. pseudocoffeae</i> (P)	Japon (Nagasaki)	<i>Artemisia</i> sp.	2,49	1,60	0,87
<i>P. coffeae</i>	Japon (Nagano)	<i>Zea mays</i>	0,62	1,27	1,38
<i>P. coffeae</i>	Japon (Saitama)	<i>Ipomoea batata</i>	0,87	1,33	1,05
<i>P. coffeae</i>	Japon (Okinawa)	<i>Bambusa</i> sp.	1,80	0,77	1,01
<i>P. coffeae</i>	Brésil	<i>Coffea</i> sp.	2,06	1,39	0,54
<i>P. coffeae</i>	Indonésie (Java)	<i>Coffea</i> sp.	1,25	2,87	3,10
<i>P. coffeae</i>	Indonésie (Java)	<i>Coffea</i> sp. (Collection)	1,53	2,43	1,14
<i>P. gutierrezi</i> (P)	Costa Rica	<i>Coffea</i> sp.	4,26	3,81	2,40
<i>P. gutierrezi</i> (T)	Costa Rica	<i>Coffea</i> sp.	2,17	2,99	1,44
<i>P. gutierrezi</i>	Costa Rica	<i>Coffea</i> sp.	2,23	2,53	0,81
<i>Pratylenchus</i> sp. ( <i>P. gutierrezi</i> ?)	Costa Rica	<i>Coffea</i> sp. *	1,83	3,37	2,39
<i>Pratylenchus</i> sp. ( <i>P. gutierrezi</i> ?)	Guatemala**	<i>Coffea</i> sp. *	2,88	4,68	4,23
<i>P. panamaensis</i>	Panama	<i>Coffea</i> sp.	1,92	1,74	0,04

(P) : Paratypes ; (T) : Topotypes

\* : Isolats élevés sur rondelles de carottes *in vitro*

\*\* : Isolat Buena Vista

dont une population topotype sont proches l'une de l'autre. L'isolat dont elles se rapprochent le plus est l'isolat Chitalon  $D^2 = 0,81$  et  $D^2 = 1,44$  (topotype).

Parmi les deux populations paratypes de *P. pseudocoffeae* prélevées toutes deux sur astéracées, celle de Nagasaki prélevée sur *Artemisia* se rapproche du centre de gravité de Chitalon ( $D^2 = 0,87$ ) alors que celle de Miazaki prélevée sur *Chrysanthemum* se rapproche du centre de gravité de Chamtaca ( $D^2 = 1,17$ ). Ces deux populations paraissent plus proches des populations de *P. coffeae* que des populations de *P. gutierrezi*.

#### *Etude comparée de la longueur des mâles:*

Les moyennes de longueur de corps des mâles des isolats Moca, Chamtaca et Chitalon sont toutes les trois différentes ( $P \leq 0,05$ ) (tableau 3.11 et figure 3.20).

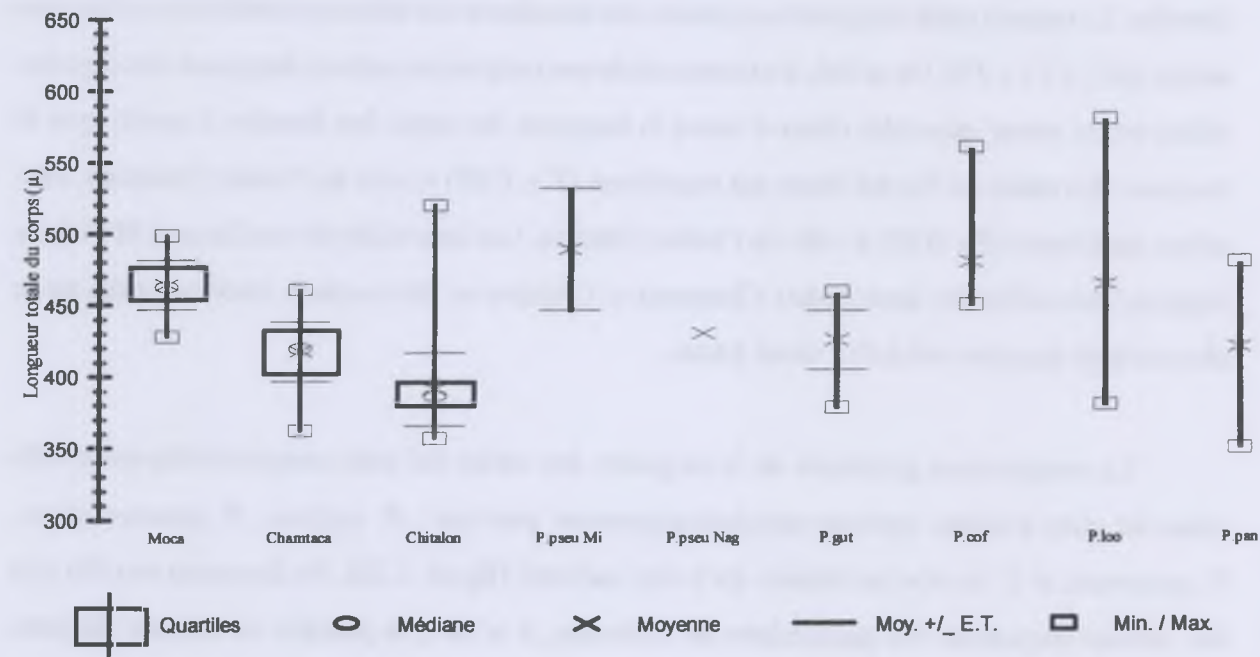
Pour les trois isolats, les mâles ont une longueur de corps inférieure ( $P \leq 0,05$ ) à celle des femelles. Le rapport entre longueurs moyennes des femelles et des mâles est similaire pour les trois isolats (de 1,13 à 1,19). De ce fait, le classement de ces trois isolats selon la longueur de corps des mâles est le même que celui observé selon la longueur de corps des femelles à savoir que la longueur des mâles de l'isolat Moca est supérieure ( $P \leq 0,05$ ) à celle de l'isolat Chamtaca, elle-même supérieure ( $P \leq 0,05$ ) à celle de l'isolat Chitalon. Les intervalles de confiance à 95% de la longueur des mâles des deux isolats Chamtaca et Chitalon se chevauchent entre eux mais ne se chevauchent pas avec celui de l'isolat Moca.

La comparaison graphique de la longueur des mâles des trois isolats étudiés avec celle observée chez d'autres espèces morphologiquement proches : *P. coffeae*, *P. pseudocoffeae*, *P. gutierrezi*, et *P. loosi* n'est réalisée qu'à titre indicatif (figure 3.20). Ne disposant en effet que des valeurs moyennes des populations de référence, il n'est pas possible de réaliser de tests statistiques. On observe que l'intervalle de confiance à 95% de la longueur de corps des mâles de l'isolat Chitalon montrent des données inférieure aux moyennes des autres populations.

**Tableau 3.11.** Longueur de corps des mâles de trois isolats de *Pratylenchus*.

Isolat	n	Longueur moyenne $\pm$ Ecart Type (Minimum - Maximum)	
Moca	43	464.0 $\pm$ 17.5 (427.92 - 499.0)	<i>a</i>
Chamtaca	43	416.5 $\pm$ 21.6 (362.1 - 460.8)	<i>b</i>
Chitalon	43	390.9 $\pm$ 25.7 (356.9 - 519.7)	<i>c</i>

Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman et Keuls ( $P < 0,001$ ).



P.pseu Mi : Allotypes (n = 11) de *P. pseudocoffeae* (Miyazaki) (Mizukubo, 1992a)  
P.pseu Nag : Allotypes (n = 1) de *P. pseudocoffeae* (Nagasaki) (Mizukubo, 1992a)  
P.gut : Allotypes (n = 20) de *P. gutierrezi* (Golden *et al.*, 1992)  
P.cof : Allotypes (n = ?) de *P. coffeae* (Loof, 1960)  
P.loo : Allotypes (n = ?) de *P. loosi* (Loof, 1960)  
P. Pan : Allotypes (n = 11) de *P. panamensis* (Siddiqi *et al.*, 1991)

**Figure 3.20.** Comparaison de la longueur de corps des mâles de trois isolats de *Pratylenchus* avec celles d'allotypes (mâles) de différentes espèces morphologiquement proches de *P. coffeae*.



### 1.2.2. Discussion

#### *Différenciation des isolats d'après les descripteurs morphométriques des femelles:*

L'analyse de variance (tableau 3.4) sur les dix variables retenues pour l'AFD montre, à l'exception de la longueur du stylet (STY) et la position de la vulve (V), des différences significatives entre les trois isolats. Malgré ces différences significatives observées entre isolats, la forte variabilité de ces variables au sein de chaque isolat entraîne des chevauchements importants des rangs de valeurs observées pour chacun des isolats (figure 3.16). Les différents descripteurs morphométriques pris isolément ne permettent donc pas de classer tous les individus des trois isolats de l'étude. De ce fait, ces caractères ne peuvent être utilisés séparément à des fins de diagnose.

En revanche le pseudo- $F$  du premier axe factoriel discriminant est très supérieur au plus grand des  $F$  calculés pour chacun des dix descripteurs (tableau 3.5) et atteste de la pertinence de l'AFD pour discriminer les trois isolats étudiés par rapport à la simple analyse de variance. Même le pseudo- $F$  du second axe reste largement supérieur au plus grand  $F$  des descripteurs. De fait, cette AFD permet un bon niveau de discrimination des isolats Moca, Chamtaca et Chitalon, soit : 88,9% ; 95,4% et 93,5%, respectivement (tableau 3.8 et figure 3.17). Il faut cependant tenir compte du fait que l'estimation du nombre d'individus reclassés selon la statistique de Mahalanobis est biaisée et qu'il en résulte une sous-estimation de ce nombre du fait de la méthode employée par le logiciel STATITCF, utilisé dans cette étude (Tomassone, 1988 ; Tomassone *et al.*, 1988).

Les dix descripteurs utilisés pour l'AFD semblent pertinents. Les deux descripteurs longueur du stylet (STY) et la position relative de la vulve (V) qui ne montraient pas de différence significative ( $P \leq 0,05$ ) entre les trois isolats selon la simple analyse de variance participent fortement à l'AFD comme le montrent leurs  $r^2$  canoniques respectifs (tableau 3.6). Cela peut s'expliquer par le fait que pour ces deux descripteurs, la variance inter-isolat qui est utilisée dans l'analyse de variance simple est faible alors que le rapport variance inter-isolat / variance intra-isolat qui est utilisé dans l'AFD est élevé.

La pertinence d'utilisation de la longueur du corps dans la discrimination de populations de *Pratylenchus* selon leur morphologie est remise en question par différents auteurs. Mizukubo (1992, a) et Inserra *et al.* (1998) ne prennent pas en compte ce descripteur dans l'analyse

multivariée des mesures morphométriques de différentes populations de *Pratylenchus* spp. L'argument avancé par ces auteurs est la dépendance de cette variable vis à vis des conditions environnementales et en particulier trophiques qui est observée chez de nombreuses espèces de nématodes de vie libre (Arpin *et al.*, 1988) ou phytoparasites avec pour ces derniers une influence importante de la plante hôte : espèce parasitée et rythmes phénologiques. L'influence du milieu sur la longueur du corps a été montré chez *P. brachyurus*, *P. coffeae* (Tarjan & Frederick, 1978 ; Duncan *et al.*, 1998) et *P. loosi* (Inserra *et al.*, 1996). Dans le cas présent de cette étude, les individus observés proviennent d'élevages monoxéniques permettant d'avoir des conditions homogènes du milieu pour les trois isolats étudiés. Il est possible cependant que les rondelles de carottes utilisées pour l'élevage ne représentent pas la même qualité de milieu de croissance pour les différents isolats et ne correspondent donc pas forcément aux conditions optimales de développement de chacun de ces isolats. Il est possible par conséquent que des biotypes différents d'une même espèce présentent des longueurs de corps différentes du fait de la dépendance de ce descripteur vis à vis du milieu. De plus, l'inoculum initial relativement réduit (environ 200 individus) pour démarrer les élevages pourrait, s'il n'était pas représentatif des populations naturelles d'origine, entraîner un phénomène de dérive génétique pouvant s'exprimer au niveau phénotypique. Le parti a quand même été pris de conserver la longueur du corps pour l'analyse morphométrique des isolats de l'étude, maintenus en élevages monoxéniques durant une même période car il a été considéré qu'étant donné la quantité de nématodes (200) ayant été inoculés au départ et la durée d'élevage préliminaire de 11 mois, les possibilités de dérive génétique étaient faibles. Mizukubo (1992, a) qui n'utilise pas la longueur du corps (L) utilise cependant la distance de l'extrémité antérieure au pore excréteur (PEX). Notre étude montre que ce descripteur est fortement corrélé avec la longueur du corps (tableau 3.3). On peut donc penser qu'il peut être autant dépendant des conditions du milieu. Il en est de même pour les descripteurs distance de la partie antérieure à l'hémizonide (HZD) et de la partie antérieure à l'hémizonion (HZN). Ces trois descripteurs PEX, HZD et HZN ne semblent donc pas plus pertinents que la longueur de corps L et dans tous les cas ne devraient pas apporter d'information supplémentaire par rapport à ce descripteur.

Les trois isolats montrent chacun une variabilité importante de leurs descripteurs morphométriques (tableau 3.2 et figure 3.16). Pourtant, la variabilité ici observée dans chacun des isolats constitue probablement une sous-estimation de la variabilité qui existe au sein des



populations naturelles. De ce fait, même en utilisant l'AFD dont la méthode consiste à maximiser le rapport variance inter-classes sur variance intra-classes (Tomassone, 1988 a et b), il devient difficile de pouvoir bien différencier les groupes d'individus. Il en résulte une discrimination qui n'est pas totale entre les trois isolats de l'étude. L'observation d'un certain nombre d'individus à reclasser selon l'AFD de leurs descripteurs morphométriques, dans un isolat autre que celui d'appartenance, amène deux questions. Pour les raisons décrites précédemment dans ce paragraphe, y-a-t-il impossibilité de distinguer morphologiquement et totalement ces isolats ou populations tout au moins avec les descripteurs utilisés du fait de la grande variabilité de ces derniers? Les isolats ont-ils en commun des individus appartenant à un même biotype ou une même espèce impliquant que dans les trois communautés de nématodes sur lesquelles ont été prélevés les isolats cohabitent donc des espèces ou biotypes différents?

En conclusion, l'étude a montré l'importante variabilité des principaux caractères morphométriques couramment utilisés pour la taxinomie chez *Pratylenchus*, ce qui les rend pour la plupart individuellement inintéressants. Leur utilisation n'a d'intérêt qu'en les intégrant à une étude multivariée, l'analyse factorielle discriminante permettant de plus de maximiser la variabilité entre groupes étudiés par rapport à la variabilité interne au sein de chaque groupe. Cette analyse a permis de mettre en évidence des différences significatives entre les trois isolats étudiés. L'interprétation taxinomique de ces différences morphométriques constatées entre ces trois isolats n'est cependant pas possible sans études biologiques complémentaires. Des variations morphologiques intraspécifiques importantes ont été observées entre différents isolats géographiques, qu'ils aient été maintenus en élevages monoxéniques ou qu'ils proviennent directement des populations naturelles parasitant la plante hôte comme cela a été montré pour *P. vulnus* (Doucet *et al.*, 1997) ou pour *P. scribneri*, *P. zae* et *P. neglectus* (Doucet *et al.*, 1998).

#### *Comparaison des isolats avec quelques populations de référence et problématique de l'origine des isolats pour leur analyse morphométrique*

L'analyse multivariée a également permis de comparer les isolats étudiés avec d'autres populations en particulier de paratypes ou topotypes (populations prélevées sur le même site que la population paratype ayant servi à la description de l'espèce considérée) représentatifs d'espèces



décrites (figure 3.19). La position relative des populations paratypes et autres par rapport aux valeurs moyennes des isolats de l'étude doit être néanmoins interprétée avec beaucoup de prudence. Il n'existe pas de test parfaitement adapté pour conclure sur le rattachement de ces "individus" supplémentaires à l'un ou l'autre des isolats qui ont participé à la construction des axes factoriels discriminants (Tomassone 1988, a, b). De plus, la multiplicité des observateurs peut induire des différences importantes sur les mesures morphométriques. Ces comparaisons ne doivent donc servir que comme des indicateurs pouvant orienter de futurs travaux comme des études d'interfécondité afin de pouvoir réellement statuer sur la position taxinomique des isolats.

La coïncidence de la population paratype de *P. panamaensis* avec le centre de gravité de l'isolat Chitalon constitue un indice qui doit orienter vers une étude comparée morphologique et biologique entre ces deux populations.

Le néotype de *P. coffeae* prélevé à Java par Sher & Allen (1953) mais dont le statut taxinomique est à remettre en cause (voir § 1.1.2 de ce chapitre) présente une position limitrophe entre les isolats Chitalon et Moca. Cela ne permet pas de rapprocher ce spécimen plus à l'un qu'à l'autre de ces deux isolats.

Pour les autres populations de référence (individus supplémentaires), leur représentation dans le plan factoriel montre une variabilité intraspécifique importante entre celles supposées appartenir à une seule et même espèce *P. pseudocoffeae* ou *P. gutierrezii* ou *P. coffeae*.

Les populations de *P. coffeae* du Japon prélevées sur différentes plantes hôtes (Mizukubo, 1992) sont morphologiquement proches entre elles et ont une position centrale dans le plan factoriel. Quant aux deux populations prélevées sur caféiers en Indonésie (Est de Java) et au Brésil (Duncan *et al.*, 1999), elles sont très éloignées l'une de l'autre le long de l'axe 1 du plan factoriel de l'AfD. Duncan *et al.* (1999) considèrent cependant que la population du Brésil pourrait comme d'autres populations prélevées sur Citrus dans le même état de Sao Paulo appartenir à une espèce différente non décrite. Il apparaît tout de même une grande variabilité morphométrique selon les six descripteurs ici utilisés entre les populations supposées appartenir à *P. coffeae* provenant d'origines géographiques différentes (Japon et Java) et prélevées sur des hôtes différents. De ce fait aucun des isolats étudiés en particulier ne peut être préférentiellement rattaché à cet ensemble de populations ou taxon s'il s'agit effectivement d'une seule et même

espèce.

Les deux populations paratypes de *P. pseudocoffeae* décrites par Mizukubo (1992) apparaissent très éloignées l'une de l'autre dans le plan factoriel de l'AFD. La population prélevée sur *Artemisia* à Nagasaki se rapproche du centre de gravité de Chitalon. La population prélevée sur *Chrysanthemum* à Miazaki, elle, est limitrophe des nuages de points correspondant aux isolats Moca et Chamtaca avec une position équidistante de leurs centres de gravités. Elles paraissent également éloignées des populations de *P. gutierrezii* et plus rapprochées morphologiquement des populations de *P. coffeae*.

Entre les populations de *P. gutierrezii*, on retrouve également une importante variabilité morphométrique tout au moins entre les deux populations, paratype décrite par Golden *et al.* (1992) et topotype observée par Inserra *et al.*, 1998 et Duncan *et al.* (1999). La position très excentrée (valeurs négatives sur l'axe 1) de la population paratype de *P. gutierrezii* semble pouvoir s'expliquer en grande partie par une valeur moyenne de l'indice *b* très inférieure à celles observées pour toutes les autres populations de référence ainsi que pour les isolats de l'étude. Il faut tenir compte que les mesures morphométriques des ces différentes populations ont été réalisées par des observateurs différents avec des matériels différents, facteurs qui peuvent induire des différences importantes sur les résultats des mesures morphométriques (Brown, 1981). Par ailleurs, Mizukubo (1992, a) préfère ne pas inclure l'indice *b* dans son étude morphométrique des populations du complexe *P. coffeae* du fait de la difficulté rencontrée pour déterminer la limite oesophage-intestin. Dans la présente étude, l'indice *b* participe fortement à la discrimination entre l'isolat Moca et les autres isolats Chamtaca et Chitalon. De fait, on observe que la position de cette limite oesophage-intestin est invariablement positionnée en face de l'hémizonide pour les femelles de l'isolat Moca alors que pour les deux isolats Chamtaca et Chitalon, cette limite oesophage-intestin est toujours postérieure à l'hémizonide. Il n'a pas été trouvé dans la littérature de telles observations sur cette différence de positionnement relatif de la limite oesophage-intestin par rapport à l'hémizonide.

Les deux isolats élevés sur rondelles de carottes initialement considérés comme appartenant à *P. gutierrezii* mais dont le statut taxinomique est remis en cause par Duncan *et al.* (1999) pour les raisons déjà décrites dans le § 1.1.2 de ce chapitre, ont une position éloignée des paratypes et des topotypes sur l'axe 1. Ces deux isolats prélevés sur *C. arabica* au Costa Rica et au Guatemala (isolat Buena Vista) apparaissent morphologiquement proches de l'isolat Moca. L'isolat Buena Vista observé par Duncan *et al.* (1999) présente toutefois une



position plus excentrée vers les valeurs supérieures de l'axe 1. Une hypothèse serait qu'ayant été mis en élevage monoxénique depuis déjà 9 ans, une certaine dérive génétique ait eu lieu pour cet isolat. L'isolat prélevé au Costa Rica, en comparaison, n'a été mis en élevage sur rondelles de carottes que durant cinq mois avant d'avoir été étudié (Duncan, communication personnelle). On observe également une différence entre cet isolat et l'isolat initialement prélevé sur caféiers dont il provient. Il semble exister pour ces isolats une certaine relation entre le temps d'élevage sur rondelles de carottes et la position de ces isolats sur l'axe 1. Il pourrait donc exister selon les résultats de Duncan *et al.* (1999) un effet positif de l'élevage sur rondelles de carottes sur certains descripteurs corrélés à l'axe 1 comme la longueur de corps des femelles. Deux facteurs peuvent intervenir, le premier étant le facteur trophique puisqu'il n'y a pratiquement pas d'épuisement des ressources dans les élevages monoxéniques. Le second facteur à prendre en compte est la température qui influence les cycles de développement de ces organismes poïkilothermes. Cette influence de la température sur les caractères morphométriques et en particulier la longueur des individus a d'ailleurs été observée pour *Pratylenchus brachyurus* et *P. zae* par Olowe & Corbett (1984). Les élevages présentent une température beaucoup plus stable ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$  pour les isolats de l'étude) et peut-être plus optimale que celles rencontrées dans les conditions naturelles, pour le développement de ces nématodes. Il aurait été intéressant de pouvoir également comparer les données morphométriques des trois isolats de l'étude au moment du prélèvement sur caféiers avec celles obtenues après 11 mois d'élevage sur rondelles de carottes. Des observations morphométriques devront être faites dans le temps pour confirmer une éventuelle évolution des caractères morphométriques.

La discrimination des populations selon leurs caractéristiques morphométriques pose donc le problème de l'origine des individus étudiés, c'est-à-dire provenant de populations sauvages directement prélevées sur la plante hôte ou provenant d'élevages monoxéniques. La caractérisation morphologique à partir d'individus d'une population sauvage, directement prélevée sur la plante hôte permet d'avoir une meilleure représentativité de la variabilité présente au sein de la population. Par contre les isolats d'élevage proviennent généralement d'un inoculum de départ assez faible réduisant de façon considérable la diversité qui pouvait exister dans la population naturelle d'origine. Cette taille d'échantillonnage pourrait avoir un effet fondateur entraînant une dérive génétique pour des isolats maintenus en élevages sur de longues périodes. Par ailleurs l'étude des populations sauvages pose un problème de reproductibilité des mesures effectuées du



fait de l'influence des facteurs saisonniers sur les paramètres morphologiques par des influences directes des facteurs climatiques (organismes poïkilothermes) ou bien à travers les rythmes phénologiques des plantes hôtes (Tarjan & Frederick, 1978 ; Inserra *et al.*, 1996 ; Duncan *et al.*, 1998). Les conditions d'élevage monoxénique, en l'occurrence les rondelles de carottes, sont homogènes pour toutes les populations mais ne correspondent pas forcément aux conditions optimales de développement et de reproduction pour chacune des populations étudiées, d'un point de vue tropique mais aussi thermique, et de ce fait ne permettent donc pas forcément à toutes les populations d'exprimer leurs potentialités optimales. L'observation d'individus d'élevages présente par contre l'avantage de permettre s'ils sont menés dans les mêmes conditions (substrat alimentaire, température et durée) de mettre en évidence des différences morphologiques uniquement dues à des paramètres intrinsèques de chaque isolat. Des différences morphométriques ont été observées entre différents isolats de *Pratylenchus vulnus* élevés sur rondelles de carottes en relation avec leur origine géographique (européennes et américaines) et/ou l'hôte sur lequel ils avaient été prélevés mais aussi en relation avec certains paramètres biologiques d'agressivité et de capacité reproductive sur des hybrides (*Prunus persica* x *P. amygdalus*) et des porte greffes *Malus silvestris* (Pinochet *et al.*, 1993, 1994 ; Doucet *et al.*, 1996). Les observations faites sur des individus d'élevage permettent également de comparer les résultats obtenus dans diverses études si les conditions d'élevage sont similaires. En revanche, d'un point de vue de diagnostic, les études morphométriques réalisées sur des individus d'élevage posent le problème de représentativité de l'isolat vis à vis du taxon auquel il appartiendrait.

*Apport de la longueur des mâles dans la différenciation des isolats :*

Le descripteur longueur de corps des mâles n'apporte pas d'information supplémentaire pour la discrimination des trois isolats étudiés par rapport à l'analyse des données morphométriques des femelles. En effet, le rapport entre longueurs de femelles et mâles est similaire pour les trois isolats et de ce fait on retrouve la même classification avec les mâles qu'avec les femelles selon la longueur de corps. Elle conforte donc la différenciation des trois isolats selon leurs caractères morphométriques.

Bien que les longueurs des mâles des isolats Moca, Chamtaca et Chitalon soient toutes les trois significativement différents ( $P \leq 0,05$ ), on observe tout de même un chevauchement des

intervalles de confiance à 95% des deux isolats Chamtaca et Chitalon. En revanche l'intervalle de confiance à 95% de l'isolat Moca est supérieur aux valeurs des intervalles de confiance à 95% des deux autres isolats. Par comparaison, on observe également que les deux quartiles centraux des données de longueur de corps des femelles de l'isolat sont supérieurs à ceux de des deux autres isolats.

Il n'est pas possible de conclure quant à la comparaison de la longueur de mâles des trois isolats de notre étude avec celles d'autres populations de référence appartenant à différentes espèces. Ne disposant en effet que des valeurs moyennes des populations de référence, il n'est pas possible de réaliser de tests statistiques. De plus, les isolats étudiés proviennent d'élevages sur disques de carottes *in vitro* alors que les données morphométriques disponibles pour les mâles de populations décrites sont des allotypes donc directement prélevés sur leur hôte d'origine. Nous avons discuté précédemment de cet effet de l'élevage sur les données de longueur du corps pour les femelles. On remarquera la similitude de distribution des valeurs de ce descripteurs pour les mâles des deux populations paratypes de *P. gutierrezi* et de *P. panamaensis* toutes deux collectées sur caféiers (Costa Rica et Panama respectivement).

La caractérisation morphométrique complète des mâles devra être effectuée pour une caractérisation complète de ces populations. Les coefficients de variation des paramètres morphométriques des mâles devront être comparés avec ceux observés chez les femelles. L'analyse multivariée des paramètres morphométriques des mâles devrait permettre également de contribuer à la différenciation de ces populations bisexuelles, le niveau de discrimination obtenu avec les mâles devant être comparé avec celui observé pour les femelles.

### 1.3. Discussion-conclusion

Différents caractères morpho-anatomiques des femelles concordent pour dégager une dichotomie phénétique entre les quatre isolats étudiés en les séparant selon deux groupes avec d'une part Chamtaca et Chitalon et d'autre part Moca et Buena-Vista. Cette dichotomie phénétique consiste en :

- Une configuration de l'anneau céphalique des femelles selon Corbett et Clark (1983) de Type I pour [Chamtaca et Chitalon] et de Type II pour [Moca et Buena-Vista]. Une dichotomie semble également exister chez les mâles mais elle reste à préciser.
- Un phénotype "majeur" des parties postérieures de femelles de type subcylindrique à extrémité distale tronquée à largement arrondie pour [Chamtaca et Chitalon] et de type conoïde à extrémité distale pointue à subhémisphérique pour [Moca et Buena-Vista].
- Une position relative de la limite intestin-oesophage postérieure pour [Chamtaca et Chitalon] et antérieure à l'hémizonide [Moca]. Ce critère est cependant présenté avec réserve car il n'est pas mentionné dans la littérature décrivant les espèces de *Pratylenchus*.

Il serait intéressant d'après cette dichotomie de réviser en détail les femelles qui selon l'AFD sur dix descripteurs morphométriques des trois isolats Moca, Chamtaca et Chitalon ont été reclassées dans un autre isolat que celui d'appartenance. C'est en particulier l'observation du premier anneau céphalique qui, pour les femelles de l'isolat Moca reclassés dans l'un des deux autres isolats et inversement les femelles des isolats Chamtaca ou Chitalon reclassés dans l'isolat Moca, permettrait de trancher sur leur appartenance à l'un ou l'autre des deux groupes phénétiques.

Cette dichotomie peut être rattachée à celle qui se dégage également selon les mêmes critères dans les différentes études morphologiques réalisées sur le complexe d'espèces comportant *P. coffeae* et les espèces morphologiquement proches qui ont déjà été mentionnées (Corbett & Clark, 1983 ; Baujard *et al.*, 1990 ; Mizukubo 1992 a, b ; Golden *et al.*, 1992 ; Inserra *et al.*, 1998, Duncan *et al.*, 1999) :



- le groupe [Chamtaca et Chitalon] se rapprocherait phénétiquement de *P. coffeae* ou des populations assimilées comme telles. L'analyse multivariée réalisée sur différents descripteurs morphométriques et l'observation de la forme générale de la partie postérieure des femelles ayant montré une certaine affinité morphologique de ces deux isolats avec *P. panamaensis* des études complémentaires doivent être réalisées.

- le groupe [Moca et Buena-Vista] se rapprocherait du phénotype de *P. gutierrezi* et *P. pseudocoffeae*. Ceci est en accord avec la similarité morphologique observée entre l'isolat Buena Vista et d'une part deux populations de Floride identifiées comme *P. pseudocoffeae* et d'autre part, mais dans une moindre mesure, le topotype de *P. gutierrezi* du Costa Rica (Duncan *et al.*, 1999). L'hypothèse d'une conspécificité ou d'une position taxinomique très proche de *P. pseudocoffeae* et *P. gutierrezi* avait été envisagée par Inserra *et al.* (1998). L'étude plus récente de la séquence D2/D3 de l'ADN ribosomique 28S semble montrer une certaine distance génétique entre ces populations laissant supposer leur appartenance à des taxons différents.

Cette dichotomie n'a pas été retrouvée dans l'analyse multivariée des descripteurs morphométrique. Cette dernière, au contraire, révèle un degré de diversité supplémentaire en permettant de différencier les trois isolats avec un niveau élevé de discrimination. Son interprétation au niveau taxinomique n'est cependant pas possible sans études complémentaires au niveau biologique, en particulier sur leur isolement reproductif. La seule étude morphologique des isolats de *Pratylenchus* de l'étude ne permet donc pas de statuer sur leur position taxinomique.

## **2. CARACTÉRISATION BIOLOGIQUE DE TROIS ISOLATS DE PRATYLENCHUS**

### **2.1. Mode de reproduction et interfécondité des isolats de *Pratylenchus***

#### **2.1.1. Résultats**

##### **2.1.1.1. Mode de reproduction des isolats**

Pour les inoculations d'un seul individu juvénile, aucune descendance n'a été observée pour les 20 répétitions de chacun des isolats Moca, Chamtaca et Chitalon (tableau 3.12). Seule une femelle a été observée pour l'une des répétitions de l'isolat Chitalon.

Concernant les inoculations de deux individus juvéniles les résultats suivants ont été observés :

- Pour l'isolat Chitalon, 5 des 19 répétitions (26%) ont donné une descendance. Le sex-ratio moyen obtenu dans ces différentes descendances est de 0,33 soit des proportions moyennes de mâles et femelles de 25 et 75% respectivement. La probabilité d'obtenir un couple mâle-femelle à partir de l'inoculum de départ de deux juvéniles est donc  $P = 2 \times (0,25 \times 0,75) = 0,37$ . Le nombre de répétitions ayant donné une descendance correspond donc à 71% du nombre théorique de répétitions pouvant contenir un couple.

- Pour l'isolat Moca, 9 des 23 répétitions (39%) ont donné une descendance. Le sex-ratio moyen obtenu dans ces différentes descendances est de 0,60 soit des proportions moyennes de mâles et femelles de 37% et 63% respectivement. La probabilité d'obtenir un couple (mâle-femelle) à partir de l'inoculum de départ de deux juvéniles est donc  $P = 2 \times (0,37 \times 0,63) = 0,47$ . Le nombre de répétitions ayant donné une descendance correspond donc à 83% du nombre théorique de répétitions pouvant contenir un couple.

Avec les inoculations de dix juvéniles, les deux répétitions réalisées pour les isolats Chamtaca et Chitalon ainsi que les six répétitions réalisées pour l'isolat Moca ont toutes donné

**Tableau 3.12.** Populations finales de nématodes quatorze semaines après inoculation de un, deux ou dix juvéniles, sur rondelles de carotte, à 27°C, pour chaque répétition et pour trois isolats de *Pratylenchus*.

	Nombre de juvéniles inoculés							
	1			2		10		
	Isolats			Isolats		Isolats		
	Moca	Chamtaca	Chitalon	Moca	Chitalon	Moca	Chamtaca	Chitalon
	n* = 20	n = 20	n = 20	n = 23	n = 19	n = 6	n = 2	n = 2
	0	0	0	0	0	500	5000	18400
	0	0	0	0	0	23217	5417	33950
	0	0	0	0	0	24600		
	0	0	0	0	0	29350		
	0	0	0	0	0	48750		
	0	0	0	0	0	123300		
	0	0	0	0	0			
	0	0	0	0	0			
	0	0	0	0	0			
	0	0	0	0	0			
	0	0	0	0	0			
	0	0	0	0	0			
	0	0	0	0	0			
	0	0	0	1050	1200			
	0	0	0	1150	2350			
	0	0	0	1500	2525			
	0	0	0	3650	4750			
	0	0	0	3700	30600			
	0	0	1	9300				
				17150				
				24025				
				29400				
Moyenne**	0	0	0	5195	4009	19218	5208	24994
Pourcentage de répétitions avec reproduction	0	0	0	39	26	100	100	100

\* n = Nombre de répétitions  
 \*\* Moyenne géométrique des populations finales des répétitions avec reproduction des nématodes



une descendance.

Les populations finales de *Pratylenchus* (juvéniles, adultes et oeufs) obtenues à partir de deux ou dix juvéniles sont très variables pour chacun des trois isolats étudiés. Les valeurs maximales de populations finales observées à 14 semaines pour les isolats Moca et Chitalon à partir des inoculations de deux juvéniles sont similaires et atteignent environ 30 000 nématodes. A partir des inoculations de dix juvéniles des mêmes isolats la population finale maximale de l'isolat Chitalon est de 34 000 avec deux répétitions seulement. Cette population maximale atteint 12 3000 nématodes pour l'isolat Moca mais avec six répétitions. Pour les deux seules répétitions d'inoculation de dix juvéniles qui ont pu être réalisées pour l'isolat Chamtaca la population finale est d'environ 5 000 nématodes.

#### **2.1.1.2. Interfécondité entre isolats**

Parmi les dix tentatives de reproduction croisée entre un juvénile de l'isolat Chitalon et un juvénile soit de l'isolat Moca, soit de l'isolat Chamtaca, aucune descendance n'a été observée 14 semaines après inoculation.

#### **2.1.2. Discussion**

##### **2.1.2.1. Mode de reproduction des isolats**

Dans le cas des inoculations de deux juvéniles, le pourcentage de répétitions ayant donné lieu à une descendance est élevé si l'on considère que la reproduction ne s'est faite que par amphimixie : 70% et 83% du nombre théorique de répétitions pouvant contenir un couple pour les isolats Chitalon et Moca respectivement. L'obtention de ces descendance à ces taux de réussite confirment donc la fiabilité du protocole utilisé pour obtenir des croisements par reproduction sexuée de nématodes inoculés au stade juvénile. Les manipulations réalisées sur les juvéniles ne semblent donc pas trop perturber leur capacité à pouvoir se développer jusqu'au stade adulte et à se reproduire.

L'obtention systématique de descendance à partir d'inoculations de dix juvéniles pour les deux répétitions de chacun des trois isolats confirme la viabilité des inoculum pour chacun des trois isolats.

L'absence totale de descendance à partir d'un seul juvénile renforce la thèse d'un mode de reproduction amphimictique obligatoire pour les trois isolats. Ces résultats sont en accord avec les observations de Radewald *et al.* (1971b) qui n'ont pas non plus observé de parthénogénèse en inoculant uniquement des femelles immatures (J4) de *P. coffeae* sur des plantules de *Citrus jambhiri*. De plus cette hypothèse est confortée par la présence abondante de mâles ainsi que la présence systématique d'une spermathèque pleine chez les femelles ( voir Chapitre 3, § 1.2.1.1).

D'un point de vue quantitatif, la variabilité du nombre de répétitions entre isolats ainsi que la forte variabilité des taux de multiplication observés ne permettent pas de mettre en évidence de différences significatives ( $P \leq 0,05$ ). Ces résultats ne permettent pas de conclure sur la capacité reproductive de ces isolats l'un par rapport à l'autre. Cependant, les taux maximums de multiplication observés pour les deux isolats Moca et Chitalon, 14 semaines après l'inoculation de seulement deux juvéniles montrent que leur capacité reproductive sur rondelles de carottes peut être élevée à 27°C.

#### **2.1.2.2. Interfécondité entre isolats**

L'absence de descendance, 14 semaines après l'inoculation de deux juvéniles provenant de deux isolats différents : Chitalon x Moca ou Chitalon x Chamtaca va dans le sens de l'existence d'un isolement reproductif entre l'isolat Chitalon et chacun des deux autres isolats.

Le nombre de dix répétitions réalisées pour chacun des deux croisements est faible. Cependant, cette absence totale de descendance est à comparer avec les résultats obtenus à partir des inoculations de deux juvéniles d'un même isolat Chitalon ou Moca où respectivement, 26 % et 39% des répétitions ont donné des descendance. De plus les taux de multiplication ayant été obtenus à partir des inoculations de deux juvéniles d'un même isolat sont élevés ce qui permet une détection facile des descendance s'il n'y a pas d'isolement reproductif. Du fait du faible nombre

de répétitions, l'hypothèse d'un certain niveau d' interfécondité ne peut tout de même pas être totalement rejetée. L'obtention d'hybrides F1 qui ne seraient pas ou très peu fertiles pourrait ne pas être décelée (eux même ou leur descendance) du fait de leur faible effectif. Perry *et al.* (1980) en croisant les deux espèces morphologiquement très proches *Pratylenchus fallax* et *P. penetrans* ont obtenu des descendance hybrides F1 mais stériles. Ils montrent ainsi le rapprochement phylogénétique de ces deux taxons par l'obtention d'une descendance F1 mais confirment leur appartenance à deux espèces différentes du fait de la stérilité des F1.

Selon le concept biologique de l'espèce (Mayr, 1974 ; Futuyma, 1986 ; Ridley, 1997) cet isolement reproductif amène l'hypothèse selon laquelle les isolats Moca et Chamtaca appartiendraient à une ou deux espèce(s) différente(s) de celle à laquelle appartient l'isolat Chitalon. Un plus grand nombre de répétitions permettraient de confirmer et préciser l'indice d'isolement reproductif entre ces isolats (Maynard-Smith, 1989). Des observations plus précoces et suivies dans le temps permettraient de déceler l'éventuelle obtention d'hybrides F1 et de définir leur niveau de fertilité. Pour déterminer si les mécanismes d'isolement reproductif sont antérieurs ou postérieurs à l'appariement (Futuyma, 1986 ; Maynard-Smith, 1989 ; Ridley, 1996), des études de traçage visuel des déplacements de nématodes (sur agar par exemple) devraient être réalisées. Huettel *et al.* (1982) ont montré des divergences au niveau du complexe de phéromones sexuelles entre les femelles des deux biotypes de *Radopholus similis* prélevées sur *Citrus* spp. et sur *Musa* spp. Cette divergence se traduit pour les mâles par une absence d'attractivité des femelles de l'autre biotype aboutissant dans leur étude à l'absence d'appariement. Cette différence comportementale aboutit dans ce cas à un probable isolement reproductif de ces deux biotypes.

Afin d'éclaircir la position taxinomique relative des différents isolats de l'étude, le croisement entre les isolats Chamtaca et Moca ainsi que le croisement entre l'isolat Buena Vista et les autres isolats devront être testés. Pour tenter d'éclaircir l'appartenance de ces isolats à des espèces déjà décrites ou bien nouvelles, des études de croisements beaucoup plus larges devront être réalisées en incluant les topotypes des différentes espèces morphologiquement proches et parasitant ou non les caféiers : *P. coffeae* (Java), *P. gutierrezi* (Costa Rica), *P. loosi* (Sri Lanka), *P. panamaensis* (Panama) et *P. pseudocoffeae* (Japon).



## **2.2. Capacité reproductive des isolats de *Pratylenchus* sur rondelles de carottes *in vitro* en fonction de la température.**

### **2.2.1. Résultats**

#### ***Influence de la température sur la capacité reproductive :***

Les effectifs de nématodes des trois isolats Moca, Chamtaca ou Chitalon observés 40 jours après inoculation sont inférieurs à 10 000 nématodes aux trois températures : 24, 27 et 30°C (figure 3.21). A cette date on n'observe pas de différences significatives ( $P \leq 0,05$ ) entre les températures ou entre les isolats.

Les niveaux de populations observés 65 jours après inoculation (figure 3.22) montrent des différences significatives de la capacité reproductive ( $P \leq 0,001$ ) entre isolats (Moca, Chamtaca et Chitalon) et entre températures (24, 27 et 30°C).

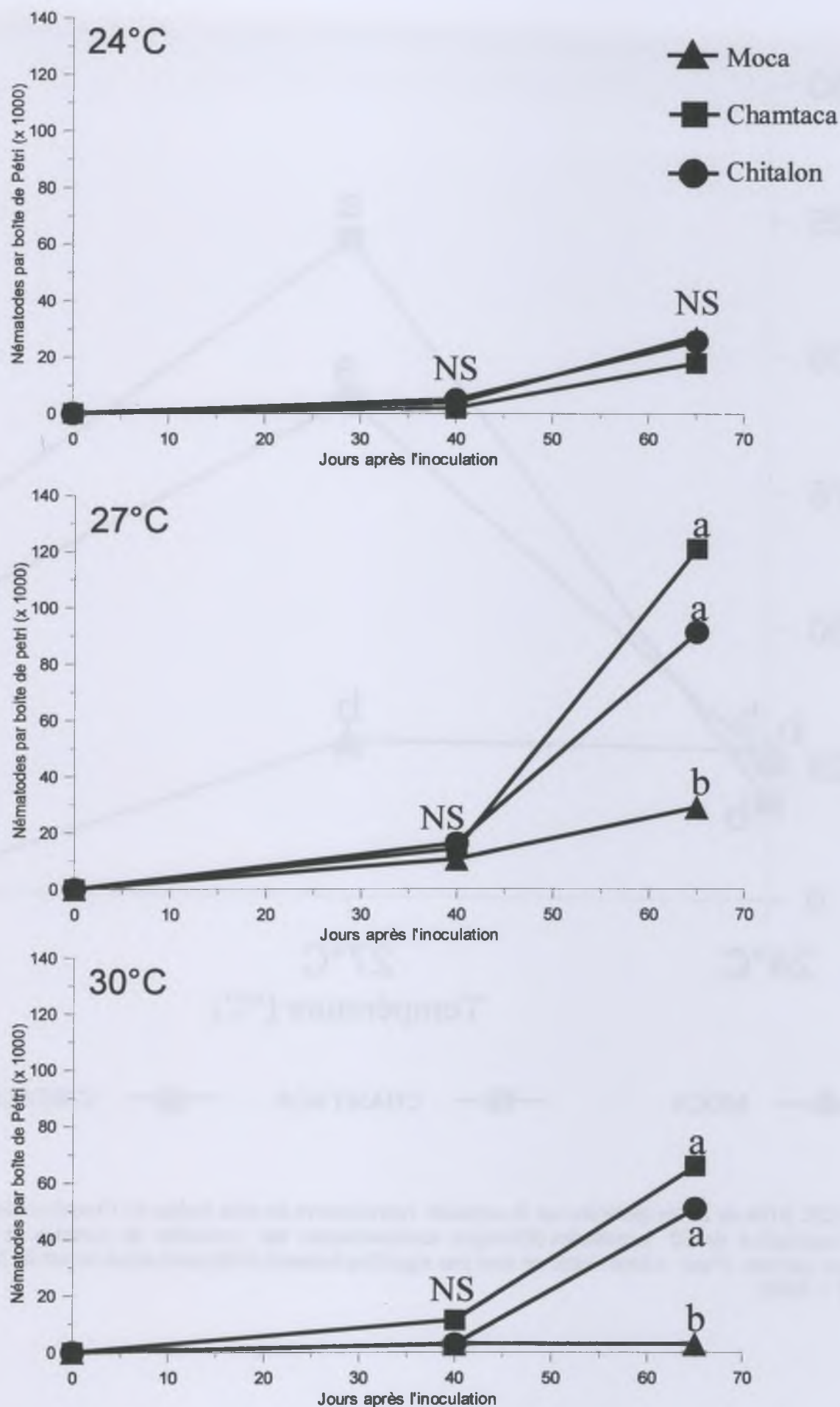
Les deux isolats Chamtaca et Chitalon présentent des populations finales similaires ( $P \leq 0,05$ ) aux trois températures.

A 27 et 30°C, les populations finales de ces isolats Chamtaca et Chitalon sont supérieures ( $P \leq 0,05$ ) à celles observées pour l'isolat Moca. A 24°C elles sont similaires ( $P \leq 0,05$ ) pour les trois isolats.

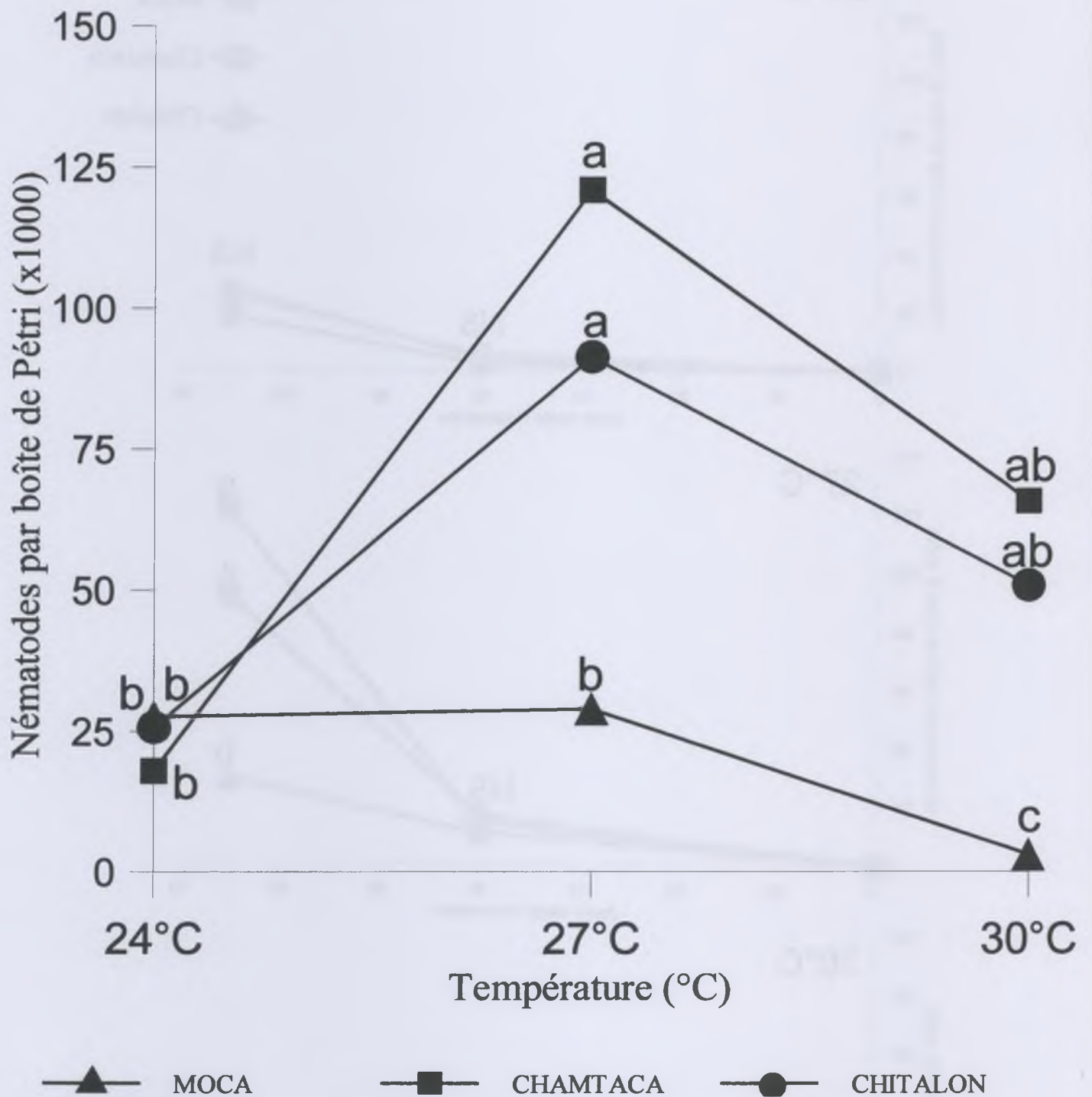
Pour les isolats Chamtaca et Chitalon les populations finales observées à 27°C sont supérieures ( $P \leq 0,05$ ) à celles obtenues à 24°C. Bien qu'il n'y ait pas de différence significative ( $P \leq 0,05$ ) entre les populations observées aux deux températures 27 et 30°C, on observe tout de même pour ces deux isolats une tendance selon laquelle les populations finales à 27°C sont supérieures à celles observées à 30°C.

Pour l'isolat Moca, les populations finales à 24 et 27°C ne sont pas différentes ( $P \leq 0,05$ ) alors que les populations finales observées à 27°C sont supérieures à celles obtenues à 30°C.

Du fait de cette différence de comportement entre l'isolat Moca et les deux autres vis-à-vis de la température, il apparaît une interaction significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les deux facteurs isolat et température sur la capacité reproductive. Cette interaction ne contribue cependant que pour 19,5% à la variabilité totale observée.



**Figure 3.21.** Capacité reproductive de trois isolats de *Pratylenchus* en fonction de la température. Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman & Keuls ( $P \leq 0,05$ ). NS = non significatif ( $P \leq 0,05$ ). (Elevages monoxéniques sur rondelles de carottes *in vitro* ; inoculum initial = 50 nématodes)



**Figure 3.22.** Effet de la température sur la capacité reproductive de trois isolats de *Pratylenchus*, 65 jours après inoculation de 50 nématodes (Elevages monoxéniques sur rondelles de carottes *in vitro*). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman & Keuls ( $P \leq 0,05$ ).



***Influence de la température sur le sex-ratio (figure 3.23) :***

Le sex-ratio n'est pas corrélé aux niveaux de populations observé dans les rondelles de carottes ( $P \leq 0,05$ ).

Pour l'isolat Moca, le sex-ratio diminue de moitié, lorsque la température augmente de 24 à 30°C, avec des valeurs de 1,2 et 0,6 respectivement.

Pour l'isolat Chitalon, le sex-ratio suit une évolution inverse entre 24 et 30°C en augmentant d'une valeur de 0,6 à 1,1 environ.

Pour l'isolat Chamtaca, le sex-ratio semble peu influencé par la température dans la gamme étudiée de 24 à 30°C avec des valeurs de 0,6 et 0,9 environ.

A 27°C, les trois isolats présentent un indice andrique similaire d'une valeur de 0,9 environ.

***Influence de la température sur la proportion de juvéniles et d'oeufs :***

La proportion de juvéniles et d'oeufs observée dans les populations des trois isolats, 65 jours après inoculation n'est pas corrélée aux niveaux de populations observées dans les rondelles de carotte ( $P \leq 0,05$ ).

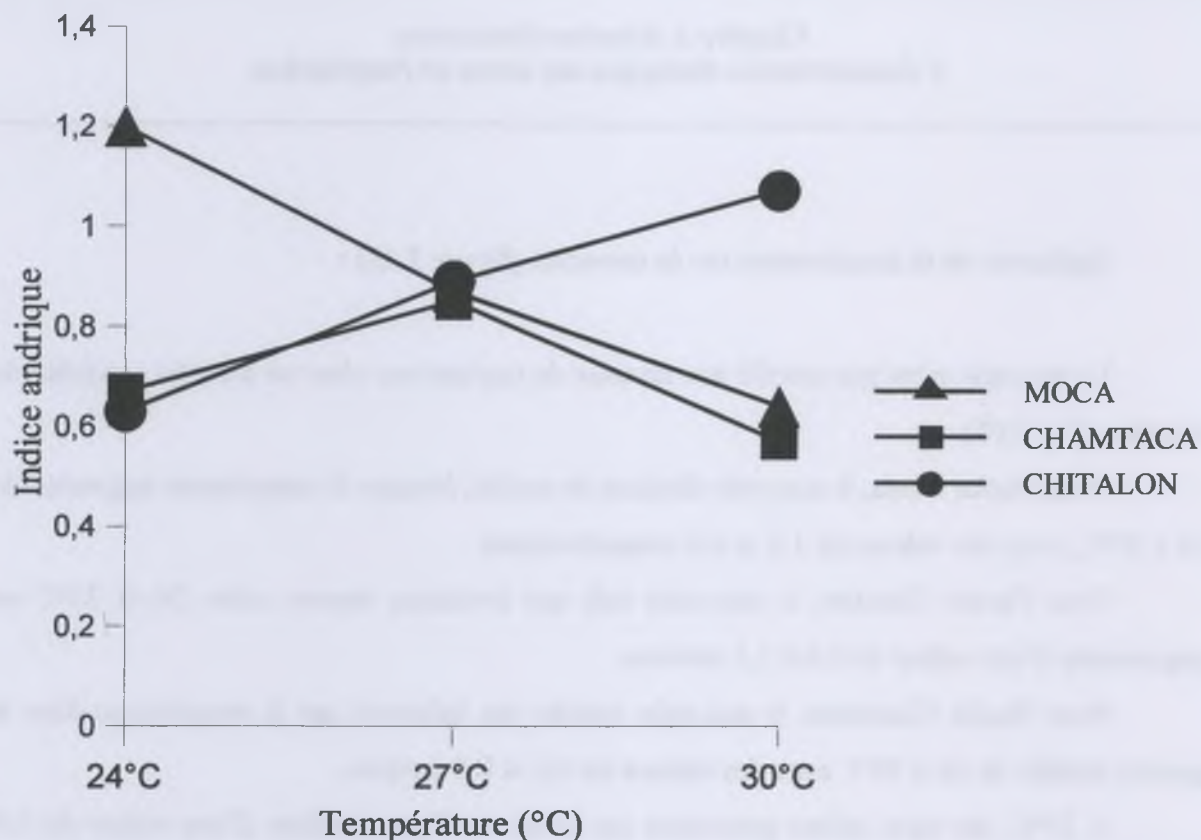
Cette proportion est similaire pour les isolats Chamtaca et Chitalon. Celle-ci varie entre 75% et 85% et semble peu influencée par la température dans la gamme testée de 24 à 30°C (figure 3.24).

A 24 et 27°C la proportion de juvéniles et d'oeufs de l'isolat Moca est similaire aux valeurs observées pour les isolats Chamtaca et Chitalon. Par contre celle-ci chute de 27 à 30°C pour passer d'une valeur d'environ 85% à 65%.

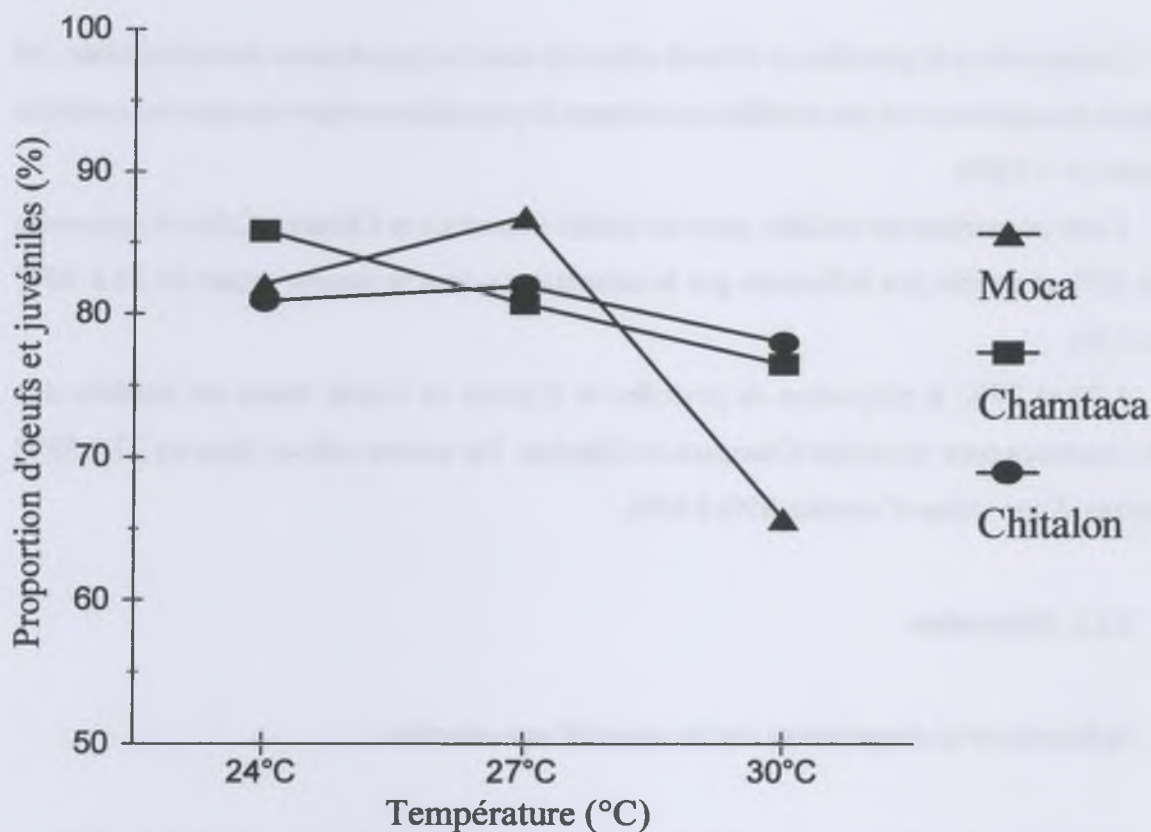
**2.2.2. Discussion**

***Influence de la température sur la capacité reproductive :***

Les deux isolats Chamtaca et Chitalon présentent une capacité reproductive similaire aux trois température testées et un optimum thermique autour de 27°C. Pour ces deux isolats, la



**Figure 3.23.** Effet de la température sur le sexe-ratio de trois isolats de *Pratylenchus* en conditions d'élevage monoxénique sur disques de carotte *in vitro*. Chaque point représente la moyenne des sexe-ratios observés dans les différentes répétitions à 40 et 65 jours après inoculation de 50 nématodes.



**Figure 3.24.** Effet de la température sur la proportion de juvéniles et d'oeufs dans les populations de trois isolats de *Pratylenchus* en conditions d'élevage monoxénique sur disques de carotte *in vitro*, 65 jours après inoculation de 50 nématodes. Pour chaque point la proportion de juvéniles et d'oeufs est calculée par le rapport des sommes de toutes les populations de juvéniles et d'oeufs et de populations totales obtenues pour chaque isolat à chaque température.

capacité reproductive sur rondelles de carottes à 30°C tend à être supérieure à celle observée à 24°C même s'il n'a pas été possible de mettre en évidence une différence significative ( $P \leq 0,05$ ). Il est donc probable que l'optimum thermique soit plutôt au dessus qu'en dessous de 27°C. En effet, la courbe de réponse du métabolisme général des nématodes vis-à-vis de la température tend généralement à être dissymétrique avec une chute rapide de cette variable au delà de l'optimum thermique alors qu'en deçà, sa croissance est plus progressive (Womersley *et al.*, 1998). C'est ce genre de réponse qu'ont observé Fallas & Sarah (1995) pour la capacité reproductive de *Radopholus similis* dans des conditions similaires d'élevage. Les mêmes auteurs ont observé pour ce parasite des bananiers un optimum thermique plus élevé autour de 30°C. Castillo *et al.* (1995) ont observé le même type de courbe de réponse de la capacité reproductive de *P. thornei* à la température, également sur rondelles de carottes *in vitro*. Son taux de multiplication augmente progressivement jusqu'à un optimum situé autour de 25°C puis au delà, ce taux chute brutalement. Hervé (1997) qui a étudié la capacité reproductive de l'isolat Chitalon a également observé un taux maximum de multiplication à 27°C avec une brusque chute de celui-ci lorsque la température descend à 24°C ou augmente à 30°C. Cet auteur montre que la température limite maximale est proche de 32°C et que le degré zéro de développement est inférieur à 22°C. Le taux de multiplication de *P. coffeae* sur racines de *Citrus jambhiri* à 29,5°C est supérieur à ce qu'il est à 26 et 32°C (Radewald *et al.*, 1971). De même, *P. coffeae* prélevé sur *Dioscorea rotundata* (Puerto Rico) montre sur racines de *Glycine max*, une multiplication plus importante à 30°C qu'à 25 et 35°C (Acosta & Malek, 1979). Ces deux dernières études montrent que la capacité parasitaire de *P. coffeae* est pratiquement nulle à 35°C mais il n'est pas indiqué dans ces études s'il s'agit de l'absence de pénétration due à une moindre activité du nématode ou d'une absence de multiplication dans la plante. L'optimum thermique au niveau du sol pour la pénétration et reproduction de *P. coffeae* sur *Solanum tuberosum* est compris entre 25 et 28°C (Yokoo & Kukoda, 1966). La variabilité des optimums thermiques observés dans ces différentes études est intéressante à noter. Différents travaux ont montré que l'effet de la température sur la capacité reproductive chez le genre *Pratylenchus* ne dépend pas seulement du nématode étudié mais plutôt de l'interaction nématodes-hôte. C'est ce qui a été observé pour *P. loosi* avec différents clones de *Camellia sinensis* (Sivapalan & Gnanapragasam, 1975). Des observations similaires ont également été faites par Dickerson (1979) pour *P. scribneri* et *P. allenii* ainsi que par Mizukubo & Adachi (1997) pour *P. penetrans*, sur différents hôtes.



L'isolat Moca présente une capacité reproductive inférieure ( $P \leq 0,05$ ) à celle que présentent les deux autres isolats à 27 et 30°C. L'influence de la température sur sa capacité reproductive apparaît également différente par rapport aux deux autres isolats. Celle-ci est similaire à 24 et 27°C ( $P \leq 0,05$ ). L'optimum thermique se situe donc probablement entre ces deux températures. La capacité reproductive de cet isolat est par contre significativement inférieure à 30°C ( $P \leq 0,05$ ). Il faut cependant tenir compte du fait que seul un faible nombre de répétitions avait pu être observé à la fin de l'expérience (65 jours après inoculation) pour cet isolat et à cette température du fait d'importantes contaminations fongiques et bactériennes. Ces contaminations affectent plus cet isolat Moca qui présente à 30°C, une multiplication faible et très inférieure à celle des deux autres isolats ( $P \leq 0,05$ ). Le faible nombre de répétitions observées, les écarts relativement importants entre les trois températures testées avec des écarts de  $\pm 1^\circ\text{C}$  ainsi que la faible capacité reproductive de cet isolat ont probablement contribué à la difficulté de déceler un optimum thermique. Des conditions mieux contrôlées (faibles variations de température) et une gamme de températures avec des pas plus courts sont nécessaires pour identifier l'optimum thermique de cet isolat. La capacité reproductive de l'isolat Buena Vista (voir chapitre 2. § 1.1.) morphologiquement proche de l'isolat Moca comme décrit antérieurement (premier anneau céphalique et extrémité distale des queues de femelles) a été étudiée par Pinochet *et al.* (1995). Dans les mêmes conditions (rondelles de carotte *in vitro*), ces auteurs estiment que l'optimum thermique est supérieur à 25°C qui constituait la température maximale testée dans leur étude. Hervé (1997) qui a également étudié l'isolat Buena Vista à 24, 27 et 30°C observe pour cet isolat ainsi que pour un autre isolat prélevé sur *C. arabica* au Salvador un taux maximum de multiplication à 27°C comme pour l'isolat Chitalon. Cependant tout comme pour l'isolat Moca dans notre étude, l'optimum thermique pour la capacité reproductive de l'isolat Buena Vista et celui du Salvador semble se situer entre 24 et 27°C. De plus, Hervé (1997) montre que ces deux isolats ont une capacité reproductive beaucoup plus faible que celle de l'isolat Chitalon à 24, 27 et 30°C, en accord avec les différences observées entre les isolats Moca et Chitalon de cette étude.

La croissance des populations de *P. loosi* sur *Camellia sinensis* est maximum entre 18 et 24°C tandis qu'une température de 30°C entraîne une diminution importante de la capacité parasitaire de ce nématode (Silvapalan & Gnanapragasam, 1975) ; Gnanapragasam, 1982 ; Gnanapragasam & Manuelpillai, 1984). En accord avec les observations précédentes, Hutchinson

& Vythilingam (1963) ont observé un optimum thermique d'environ 18-20°C pour *P. loosi*. D'après ces différentes données, les trois isolats de l'étude auraient donc un optimum thermique supérieur à celui de *P. loosi*. Cette étude met donc en évidence une différence biologique importante entre les trois isolats de l'étude et *P. loosi*, espèce à laquelle a été assimilé l'isolat Buena Vista (Anzueto & Sarah, 1992 ; Mohotti, 1998). On rappellera ici que cet isolat Buena Vista avait présenté, selon les travaux d'Hervé (1997), un comportement en fonction de la température, semblable à celui observé pour l'isolat Moca dans cette étude ainsi qu'une configuration du premier anneau céphalique similaire à celle de ce même isolat Moca.

Pour cet isolat Moca, il semble exister une contradiction entre les observations à 27°C de cette étude et celles de l'étude précédente sur le mode de reproduction des isolats également conduite sur rondelles de carottes *in vitro* en micro-boîte de Pétri à 27°C. Dans cette étude sur la capacité reproductive les populations finales de l'isolat Moca sont très faibles par rapport à celles observées pour les deux autres isolats. En revanche dans l'étude précédente sur la reproduction, les populations finales maximales de l'isolat Moca obtenues à 105 jours étaient similaires à celles observées pour l'isolat Chitalon après inoculation de deux juvéniles et même supérieures dans le cas dix juvéniles inoculés. Il est possible que 105 jours après inoculation les conditions n'étaient plus favorables pour la multiplication de l'isolat Chitalon dont la capacité reproductive est élevée alors que les populations de l'isolat Moca n'auraient pas encore épuisé les ressources alimentaires.

Ces résultats apportent quelques informations quant aux exigences thermiques des élevages monoxéniques des isolats de *Pratylenchus* étudiés. Il semble qu'une température autour de 27°C soit bien adaptée pour une multiplication optimale des trois isolats sur rondelles de carottes *in vitro*. Dans un but de maintien en collection de ces isolats, il est préférable de diminuer la température autour de 24°C voire en dessous. Cette température permet ainsi un allègement des manipulations d'entretien de ces élevages en diminuant la fréquence de repiquage des élevages de nématodes. L'utilisation de mini-boîtes de Petri sans agar apporte une amélioration non négligeable par rapport aux flacons de verre (annexe 5) en permettant un gain d'espace et en permettant de s'affranchir de l'usage de l'agar et de la nécessité de disposer les rondelles de carottes suspendues entre les parois et du même coup un gain de temps appréciable en évitant

les manipulations de préparation du gel et de disposition des carottes en suspension au dessus de l'agar.

#### ***Influence de la température sur le sex-ratio:***

Si le sex-ratio de l'isolat Chamtaca n'est pas influencé par la température dans la gamme étudiée, en revanche il semble l'être pour les deux autres isolats mais de façon inverse pour l'un et l'autre de ces isolats. L'augmentation de le sex-ratio de l'isolat Chitalon avec la température est en accord avec les résultats de Radewald *et al.* (1971). Ces auteurs observent une augmentation de la valeur de le sex-ratio de *P. coffeae* dans les racines de *Citrus jambhiri* aux plus fortes températures testées : 0,6 à 24°C ; 0,4 à 26°C ; 0,6 à 29,5°C et 1,1 à 32°C. En revanche aucun exemple de diminution de le sex-ratio tel que présenté par l'isolat Moca n'a pu être trouvé dans la littérature.

Le déterminisme de la différenciation sexuelle chez *P. coffeae* est supposé être génétique avec l'existence de chromosomes sexuels spécialisés du type XX-XY, le mâle étant le sexe hétérogamétique (Voir chapitre Introduction § 2.4.1.2.). De ce fait, l'effet de la température sur le sex-ratio pourrait résulter d'une action différentielle de ce facteur sur le développement où la mortalité des deux sexes et/ou des juvéniles dont la différenciation sexuelle a probablement déjà eu lieu au moment de l'embryogénèse (Leroi & Jones, 1998).

#### ***Influence de la température sur la proportion de juvéniles et d'oeufs :***

Seul l'isolat Moca montre une forte variation de la proportion d'oeufs et de juvéniles en fonction de la température dans la gamme étudiée avec une baisse importante de celle-ci à 30°C par rapport à 24 et 27°C.

Cette proportion est analysée dans sa globalité car la méthode d'extraction des nématodes par bullage ne permet pas de récupérer tous les oeufs. De plus, il est possible qu'une importante proportion d'oeufs éclosent pendant les cinq jours de bullage que dure l'extraction des nématodes. Les données de l'étude ne permettent pas de préciser quelles sont les influences de la températures sur les différents stades physiologiques. Cette proportion de juvéniles et d'oeufs est la résultante



de nombreux paramètres biologiques de la population : indice andrique, taux de fécondité des femelles, taux d'éclosion des oeufs, taux de mortalité des juvéniles suivant le sexe, taux de mortalité des adultes suivant le sexe. Mizukubo & Adachi (1997) ont montré que la fécondité des femelles de *P. penetrans* augmentait de 17°C à 30°C mais c'est également à 30°C que ces auteurs observaient le taux de mortalité maximum pour les juvéniles.

Néanmoins cette proportion d'oeufs et de juvéniles peut être considérée comme un indicateur de croissance des populations. De ce fait, Ces résultats sur la proportion d'oeufs et de juvéniles, en accord avec l'allure des courbes de croissance de populations aux différentes températures (figure 3.21 et figure 3.22) confortent l'hypothèse d'une plus grande sensibilité de l'isolat Moca aux fortes températures, au moins à partir de 30°C par rapport aux deux autres isolats.

Des expérimentations complémentaires devront donc être réalisées pour étudier avec plus de précision l'influence de la température sur le cycle biologique de ces populations : *i*) avec un meilleur contrôle de la température (en eau thermorégulée par exemple) ; *ii*) avec une gamme plus ample de températures testées (pour le moins : 24-32°C) et enfin *iii*) avec des pas de températures plus courts, si possible de l'ordre du degré Celsius dans la partie médiane de la gamme testée.

### **2.3. Etude comparée des relations hôte-parasite des isolats de *Pratylenchus* sur *C. arabica* et *C. canephora***

#### **2.3.1. Dynamique de pénétration des isolats dans les racines de *Coffea* spp.**

##### **2.3.1.1. Résultats**

##### **Dynamique de pénétration des isolats Moca, Chamtaca et Chitalon sur *C. arabica* cv. Catuai :**

##### *Comparaison de la dynamique de pénétration entre les trois isolats :*

Les trois isolats Moca, Chamtaca et Chitalon présentent chacun une dynamique d'infestation différente sur racines de plants de Catuai (figure 3.25).

Dans le cas de l'isolat Chitalon, l'infestation des racines par les nématodes s'effectue presque totalement durant les premières 24 heures après inoculation. En effet, la population de nématodes ayant pénétré dans les racines des plantules de Catuai n'augmente plus après 24 heures. L'effectif moyen de nématodes ayant pénétré est d'environ 100 nématodes par plant soit environ 33% de la population inoculée. Sur certaines plantules de caféier, des taux de pénétration d'environ 66% ont été observés 48 heures après inoculation.

Pour l'isolat Moca la pénétration des individus est plus lente. Jusqu'à 24 heures après inoculation, le nombre de nématodes ayant pénétré dans les racines n'est que de cinq individus par plant. Ce nombre augmente ensuite rapidement et de façon presque linéaire jusqu'à 96 heures après inoculation. Les effectifs de nématodes de l'isolat Moca ayant pénétré 48 et 96 heures après inoculation ne sont pas significativement différents ( $P \leq 0,05$ ) de ceux observés pour l'isolat Chitalon. A 96 heures, 70 nématodes ont pénétré dans les racines soit 23% de la population inoculée.

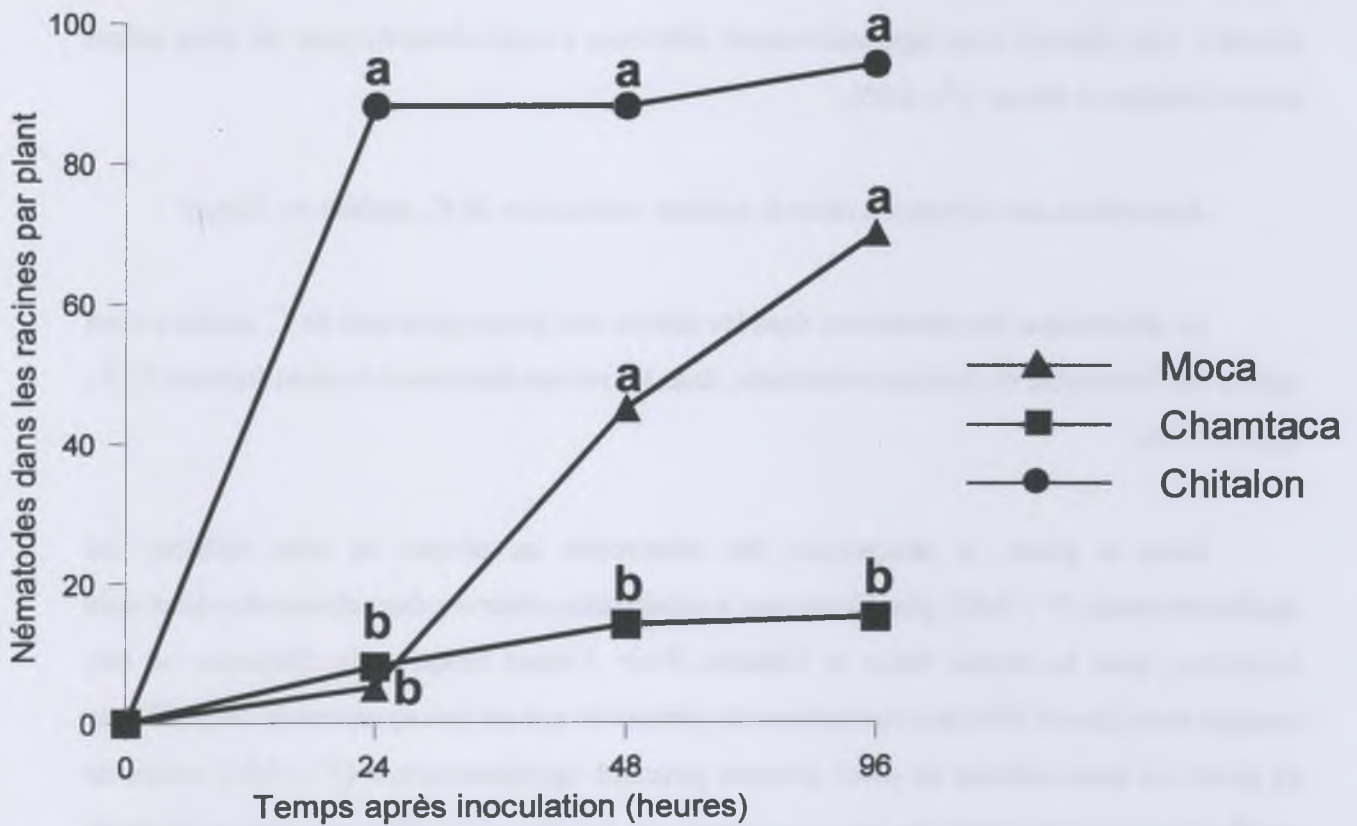


Figure 3.25. Dynamique de pénétration de trois isolats de *Pratylenchus* sur jeunes plantules de *C. arabica* cv. Catuai (stade cotylédonnaire) après l'inoculation de 300 nématodes. Pour chaque date, les moyennes géométriques suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P \leq 0,05$ ). Les effectifs de nématodes ont été  $\log[X+1]$  transformés pour leur analyse.



Pour l'isolat Chamtaca, l'infestation du système racinaire est très lente mais les effectifs de nématodes ayant pénétré sont en augmentation. A 96 heures après inoculation, un effectif moyen de seulement 15 nématodes est observé par plant environ, soit 5% de la population inoculée. Ces effectifs sont significativement inférieurs à ceux observés pour les deux autres isolats Chitalon et Moca ( $P \leq 0,05$ ).

*Répartition des nématodes dans le système racinaire de C. arabica cv. Catuai :*

La pénétration des nématodes dans les racines des jeunes plantules de *C. arabica* s'est opérée sur l'ensemble du système racinaire, dans les racines latérales et le pivot (tableau 3.13 ; figures 3.26).

Dans le pivot, la pénétration des nématodes au niveau du tiers inférieur est significativement ( $P \leq 0,01$ ) plus élevée que la pénétration observée dans chacun des deux tiers supérieurs, pour les isolats Moca et Chitalon. Pour l'isolat Moca, cette différence est très marquée avec plus de 80% des pénétrations de nématodes qui ont lieu au niveau du tiers inférieur du pivot. Le tiers inférieur du pivot présente pourtant significativement ( $P \leq 0,05$ ) moins de ramifications en racines latérales, six en moyenne, que les deux autres tiers pour chacun desquels émergent en moyenne dix ramifications. Pour les trois isolats, la proportion de pénétrations dans le tiers supérieur du pivot est inférieure à 10% mais n'est pas significativement différente ( $P \leq 0,01$ ) de celle observée pour le tiers médian.

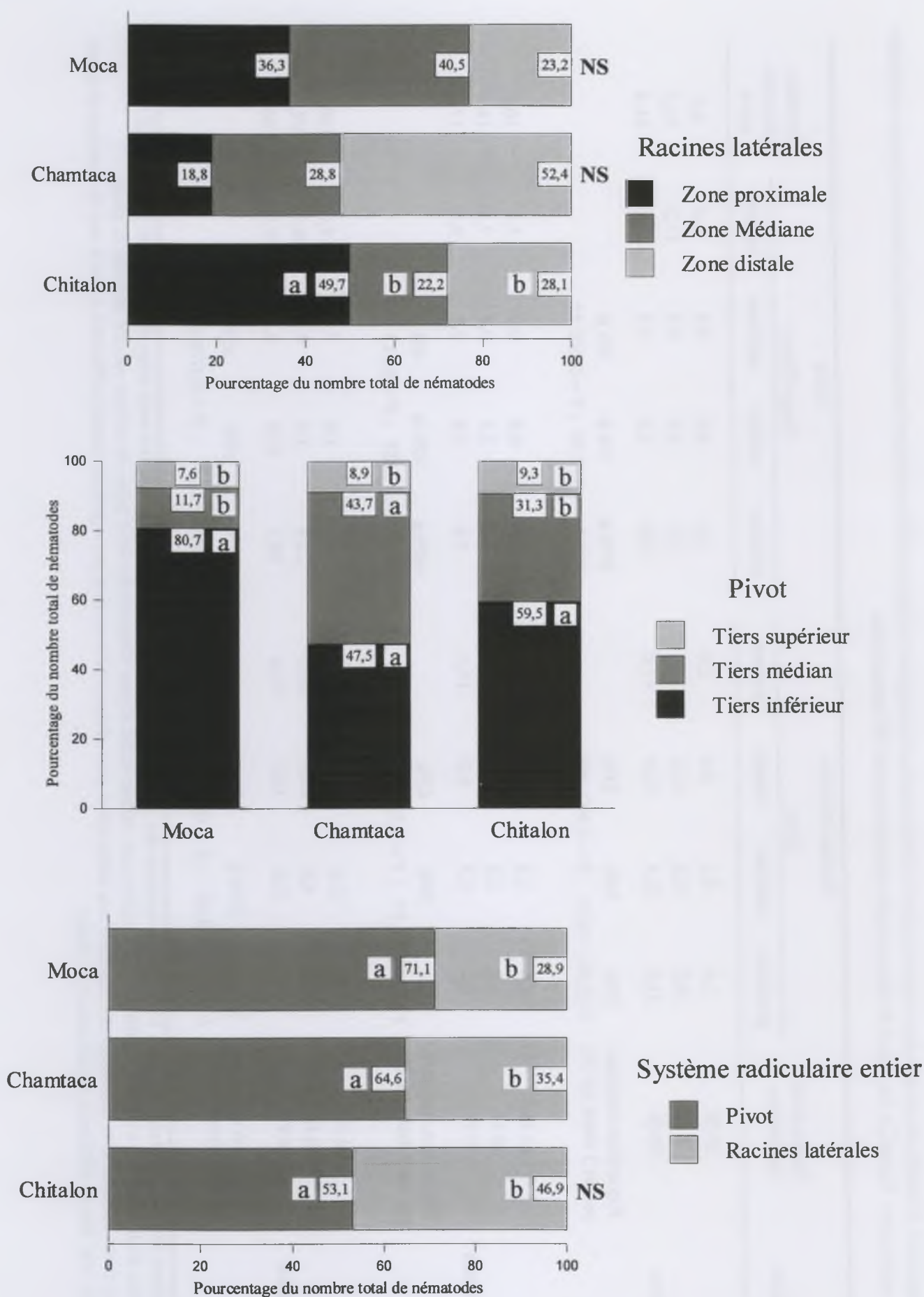
Au niveau des racines latérales, les extrémités proximales (zone immédiate à la jonction avec le pivot) et distales (région de croissance comprenant la zone méristématique, la zone d'élongation et la zone de différenciation, c'est-à-dire, le début de la région des poils absorbants) chacune d'une longueur d'environ 2 mm contiennent toutes deux des concentrations importantes de nématodes (figures 3.26 et 3.27). Au niveau de la région de croissance des racines, les nématodes ont été observés surtout dans la zone d'élongation et peu dans la zone méristématique (figure 3.27). Pour les isolats Moca et Chamtaca, les proportions de nématodes ayant pénétré dans les racines latérales au niveau de l'une ou l'autre des deux extrémités ne sont pas significativement ( $P \leq 0,05$ ) différentes de celles observées au niveau de la partie médiane (30%)

**Tableau 3.13.** Effectifs de nématodes de trois isolats de *Pratylenchus* ayant pénétré dans les différentes parties du système racinaire de jeunes plantules de *C. arabica* cv. Catuai, à 24, 48 et 96 heures après inoculation de 300 nématodes.

Isolat	Temps après inoculation	Racines latérales				Pivot				Système racinaire entier
		Zone			Somme	Etage (Tiers)			somme	
		proximale	médiane	distale		inférieur	médian	supérieur		
Moca	24 H	1,4	0,2	0,4	2,0	6,2	0,0	0,4	6,6	8,6
	48 H	10,2	13,6	12,2	36,0	17,2	0,0	0,0	17,2	53,2
	96 H	21,0	23,4	13,4	57,8	19,0	2,8	1,8	23,6	81,4
	Répartition moyenne sur les 3 dates (en %)	33%	34%	33%		91% <b>a</b>	3% <b>b</b>	6% <b>b</b>		
		$F(2,36) = 0,01 \ ; P = 0,992 \text{ (NS)}$				$F(2,33) = 218,35 \ ; P = 0,000 \text{ **}$				
Chamtaca	24 H	1,0	1,3	2,8	5,0	4,8	0,0	0,3	5,0	10,0
	48 H	1,0	2,5	5,3	8,8	4,8	2,5	0,3	7,5	16,3
	96 H	2,2	3,3	6,0	11,5	3,0	2,8	0,6	6,3	17,8
	Répartition moyenne sur les 3 dates (en %)	23%	30%	47%		64% <b>a</b>	30% <b>b</b>	6% <b>b</b>		
		$F(2,36) = 1,57 \ ; P = 0,223 \text{ (NS)}$				$F(2,21) = 5,35 \ ; P = 0,013 \text{ *}$				
Chitalon	24 H	61,4	12,0	12,4	85,8	6,2	1,8	7,0	15,0	100,8
	48 H	38,2	4,8	20,4	63,4	23,4	3,4	9,4	36,2	99,6
	96 H	28,6	12,8	16,2	57,6	30,3	15,9	4,7	50,9	108,5
	Répartition moyenne sur les 3 dates (en %)	54% <b>a</b>	21% <b>b</b>	25% <b>b</b>		44%	16%	40%		
		$F(2,42) = 8,62 \ ; P = 0,001 \text{ **}$				$F(2,42) = 2,71 \ ; P = 0,078 \text{ (NS)}$				

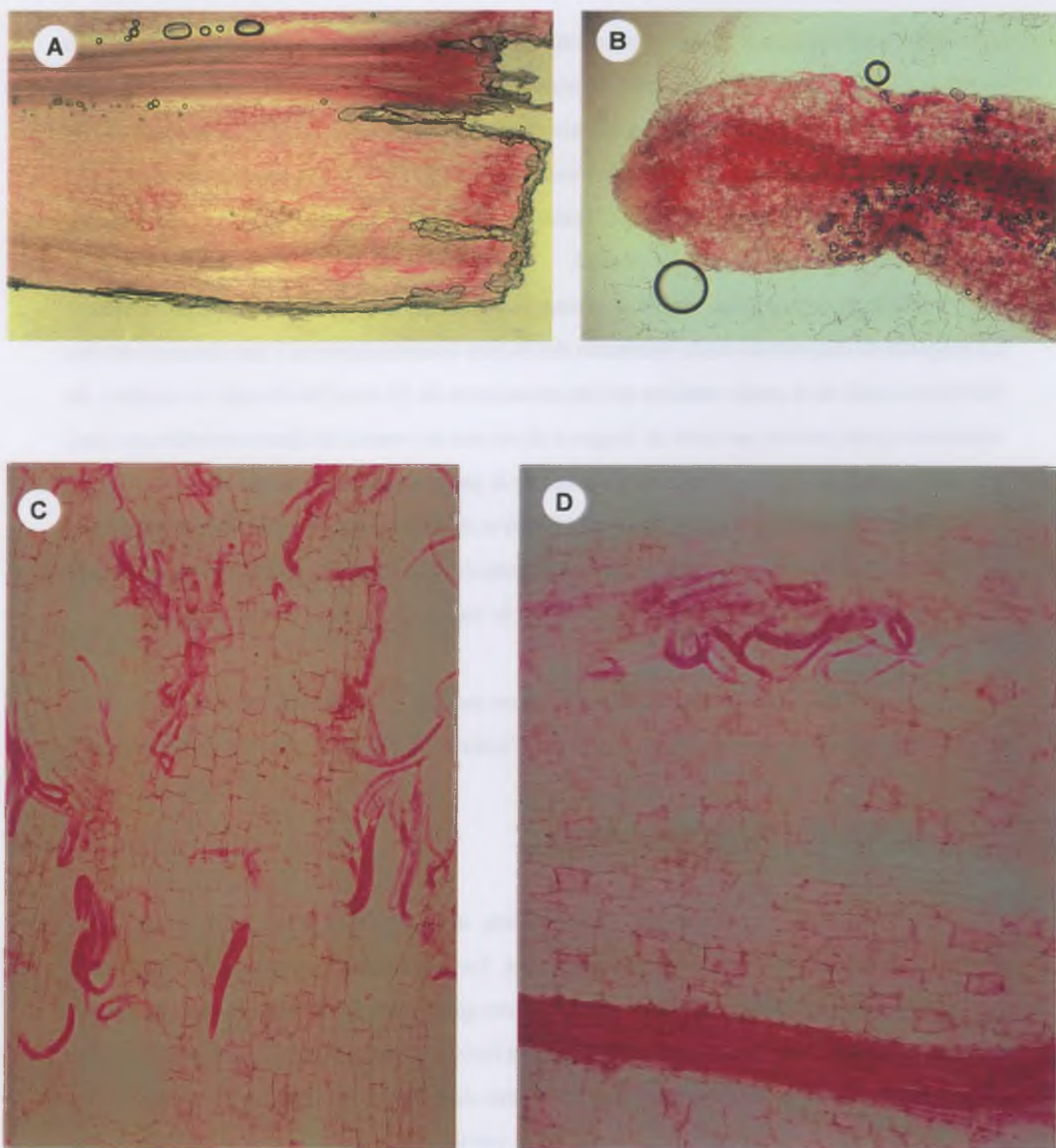
- Les valeurs de  $F$  et  $P$  correspondent à l'analyse de variance des pourcentages de nématodes sur l'ensemble des trois dates d'observation (l'interaction "zone de racine\*date d'observation" n'est pas significative;  $P \leq 0,05$ ) pour chaque isolat et pour chacune des deux types de racines: racines latérales et pivot.

- Les moyennes de répartition des nématodes suivies d'une même lettre pour chaque isolat ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman et Keuls ( $P \leq 0,05$ ). NS: Pas de différence significative ( $P \leq 0,05$ )



**Figure 3.26.** Répartition en % des *Pratylenchus* ayant pénétré dans les différentes parties des racines de jeunes plantules de *C. arabica* cv. Catuai, 96 heures après inoculation de 300 nématodes. Les proportions attribuées d'une même lettre ne sont pas différentes selon le test de Newman & Keuls ( $P \leq 0,05$ ). NS = non significatif ( $P \leq 0,05$ ).





**Figure 3.27.** Racines latérales écrasées de jeunes plantules de *C. arabica* cv. Catuai parasitées par *Pratylenchus* sp. (Isolat Chitalon), 96 heures après inoculation. **A** : Infestation en masse dans la zone de jonction avec la racine pivotante ; **B** : Infestation en masse dans la zone d'élargissement avec présence de quelques nématodes dans la région méristématique. **C et D** : agrégats de nématodes dans le parenchyme cortical.

et ceci indépendamment de la date d'observation (interaction non significative :  $P \leq 0,05$ ). Dans le cas de l'isolat Chitalon, la proportion de nématodes ayant pénétré dans les racines latérales au niveau de la zone de jonction est significativement supérieure ( $P \leq 0,01$ ) à celle observée au niveau de la partie médiane (22%) ou de l'extrémité distale (28%). Ces deux zones médiane et distale ne montrent pas pour cet isolat Chitalon de différences significatives ( $P \leq 0,05$ ) quant à la proportion de nématodes y ayant pénétré.

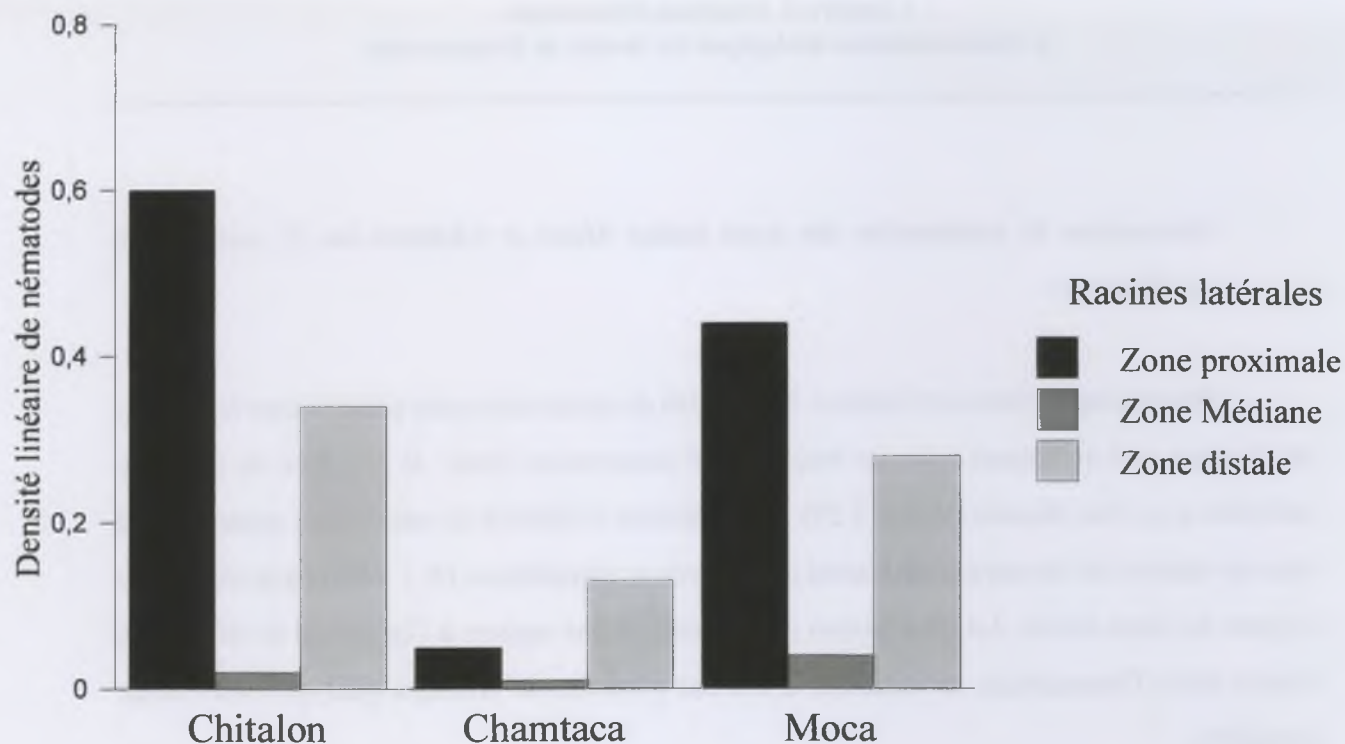
Il faut cependant tenir compte de la longueur des différentes portions des racines latérales. La longueur de chacune des deux extrémités des racines latérales (environ 2 mm chacune) est très inférieure à celle de la partie médiane qui est en moyenne de 25 mm (20-50 mm). Le nombre de nématodes ayant pénétré par unité de longueur de racines au niveau des deux extrémités est donc très supérieur à celui qui est observé au niveau de la partie médiane (figure 3.28).

Il est difficile de comparer les densités linéaires de nématodes entre les racines latérales et la racine pivotante car elles ne présentent pas les mêmes diamètres. Pour cette raison, la densité linéaire entre les trois tiers de la racine pivotante, de même longueur, n'est pas représentée.

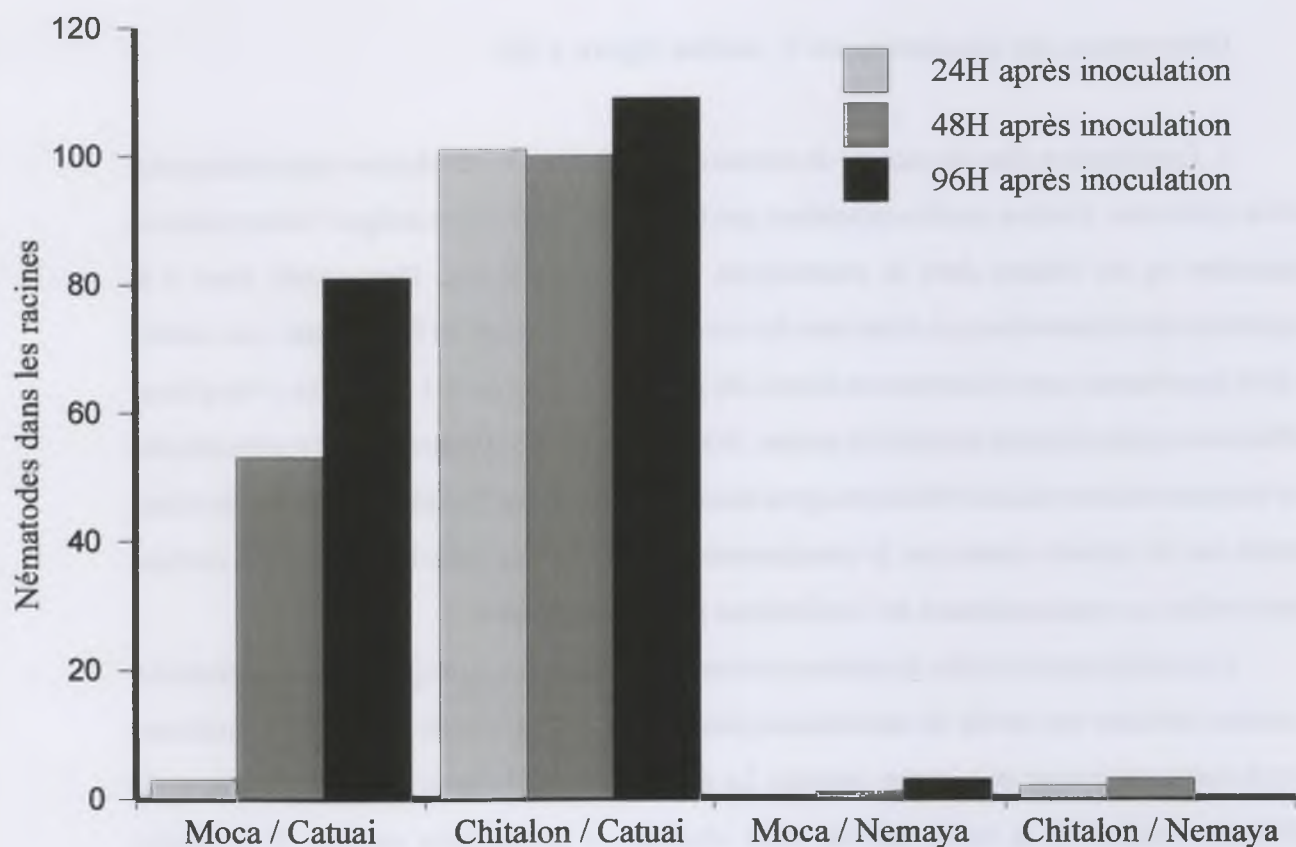
L'observation des racines après inoculation montre presque toujours des agrégats de nématodes d'effectifs variables (figure 3.27). Peu d'individus isolés sont observés dans les racines.

#### *Structure de la population infestante :*

Dans quelques cas favorables d'observation, on a décelé la présence de juvéniles de différents stades ainsi que d'adultes des deux sexes. La présence de quelques œufs a également été observée dans des racines de plants dès 24 heures après inoculation de nématodes de l'isolat Chitalon et Moca. Cette méthode d'écrasement des racines n'a cependant pas permis d'identifier avec fiabilité ni le stade de développement ni le sexe dans le cas des adultes de la plupart des individus observés dans les racines. Cela est dû en particulier à une importante lignification des tissus même pour les racines les plus jeunes. Il n'a donc pas été possible de quantifier les proportions des différents stades de développement, ni le sex-ratio des populations de nématodes ayant pénétré dans les racines.



**Figure 3.28.** Densités de *Pratylenchus* par mm linéaire de racines dans les différentes parties des racines latérales de jeunes plantules de *C. arabica*, 96 heures après inoculation de 300 nématodes.



**Figure 3.29.** Dynamique de pénétration de deux isolats de *Pratylenchus* sur jeunes plantules (stade cotylédonnaire) de *C. arabica* cv. Catuai et de *C. canephora* cv. Nemaya ; 24, 48 et 96 heures après l'inoculation de 300 nématodes.



***Dynamique de pénétration des deux isolats Moca et Chitalon sur C. canephora cv. Nemaya :***

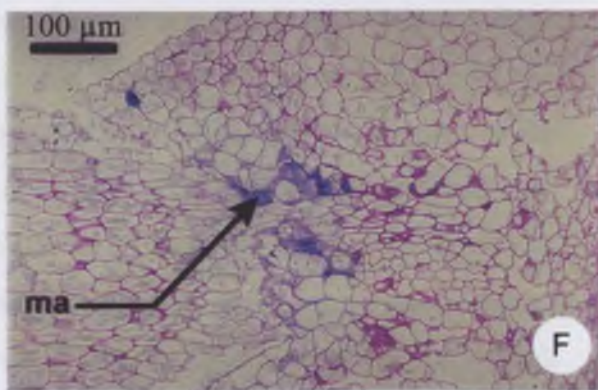
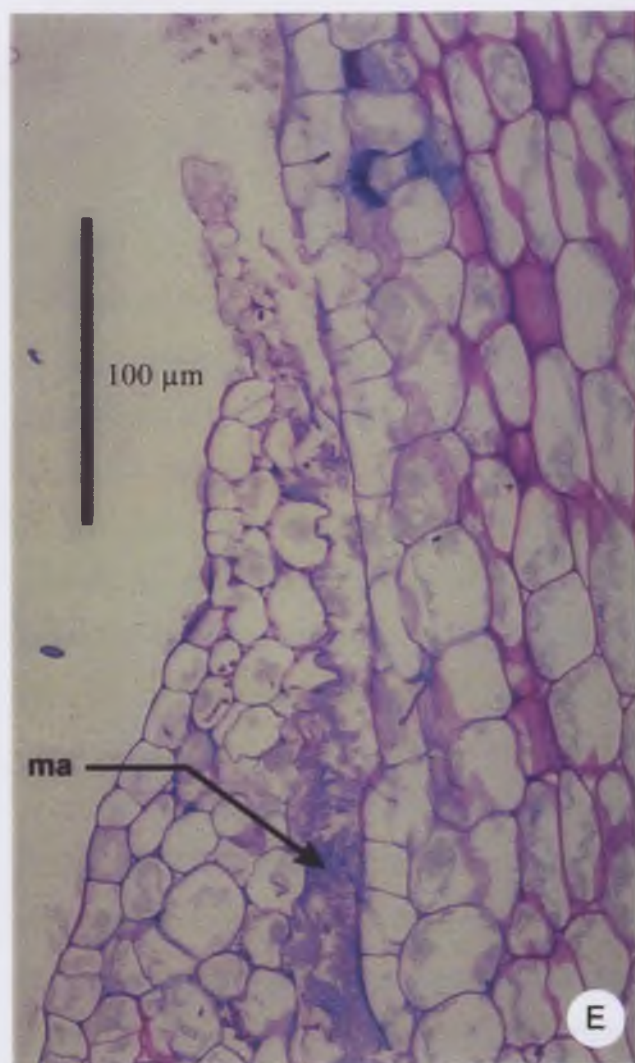
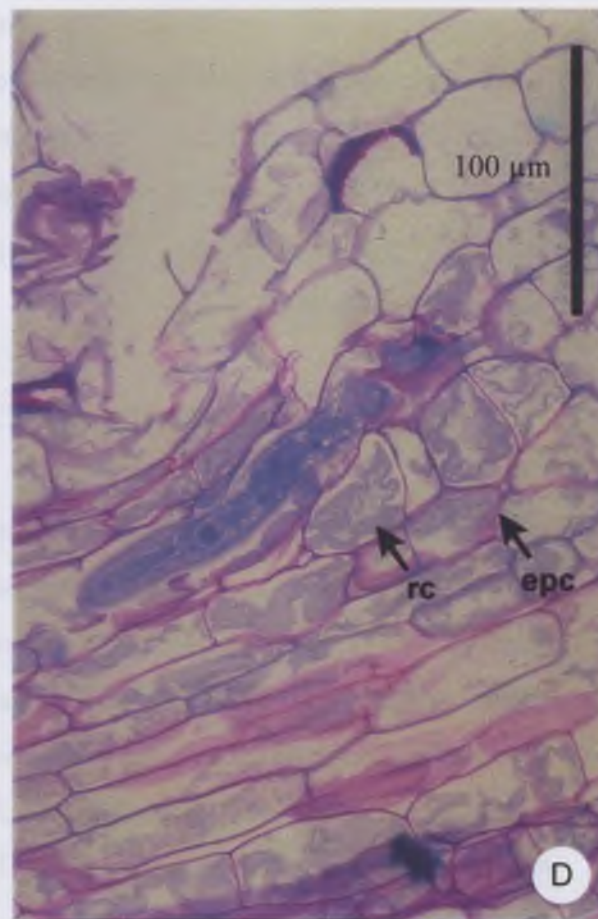
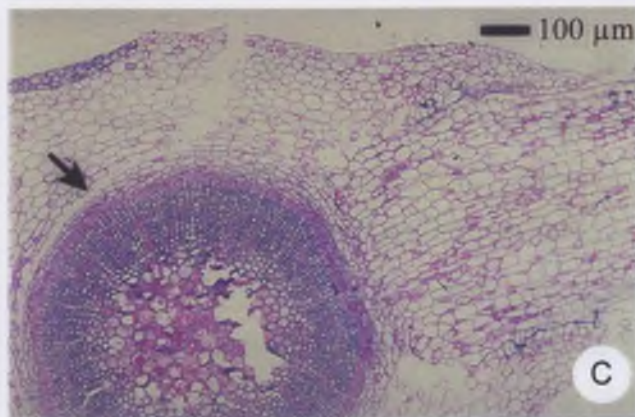
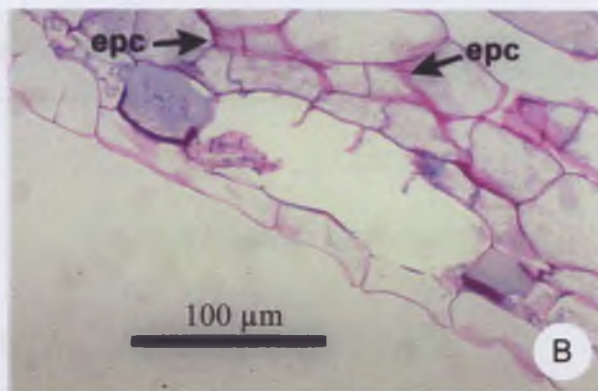
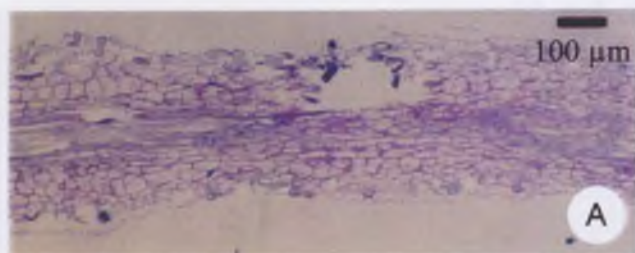
Pour les isolats Moca et Chitalon, les effectifs de nématodes ayant pénétré dans les racines de Nemaya sont quasiment nuls aux trois dates d'observation. Seule la présence de quelques individus a pu être décelée (figure 3.29). La différence d'effectifs de nématodes ayant pénétré dans les racines de Nemaya et de Catuai est hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) aux trois dates et pour les deux isolats. Le taux moyen de pénétration par rapport à l'inoculum de départ, 96 heures après l'inoculation, est inférieur à 1% sur plantules de Nemaya quel que soit l'isolat considéré.

***Quelques aspects histopathologiques de l'infestation des racines de C. arabica cv. Catuai et C. canephora cv. Nemaya par *Pratylenchus* :***

***Observations des infestations sur C. arabica (figure 3.30):***

1. *Localisation dans les tissus* : au niveau de l'épiderme, des déchirures importantes sont parfois observées. Il arrive parfois cependant que l'épiderme reste intact malgré l'observation de nématodes ou de lésions dans le parenchyme cortical sous-jacent. Des cavités dues à la progression des nématodes sont observées dès les couches cellulaires de l'exoderme. Les cavités les plus importantes sont observées au niveau du parenchyme cortical. Les lésions s'élargissent parfois avec un décollement complet du cortex. Aucune attaque du cylindre central n'a été décelée pour les observations réalisées 96 heures après inoculation de l'isolat Chitalon. L'observation dans certains cas de tunnels causés par le cheminement des nématodes dans le parenchyme cortical montre même un contournement de l'endoderme par les nématodes.

Les coupes transversales de racines pivotantes au niveau des émergences ou ramifications de racines latérales ont révélé de nombreuses pénétrations au niveau de la rupture d'épiderme entre la racine pivotante et la racine latérale. Le nématode semble alors se déplacer le long de l'épiderme résiduel de la racine latérale pour atteindre le parenchyme cortical de la racine pivotante. D'autres observations montrent que même à partir de pénétrations plus distales dans les racines latérales, un certain nombre de nématodes semble également se diriger vers la racine



**Figure 3.30.** Vues en coupe de racines de plantules *C. arabica* parasitées par *Pratylenchus* sp. (Isolat Chitalon). **A** : Coupe longitudinale d'une racine latérale montrant plusieurs lésions. **B** : cavité au niveau de l'exoderme laissée par la migration des nématodes. **C** : lésions au niveau du parenchyme avec contournement de l'endoderme ; **D** : nématode en coupe dans le parenchyme d'une racine latérale près de son émergence migrant vers la racine pivotante ; **E -F** : lésions laissées par la pénétration des nématodes au niveau de la rupture d'épiderme dans la zone d'émergence d'une racine latérale. **ma** : matériel d'origine animale coloré en bleu (protéines) ; **epc** : épaisissements des parois pecto-cellulosique ; **rc** : réduction cytoplasmique des cellules adjacentes aux lésions.



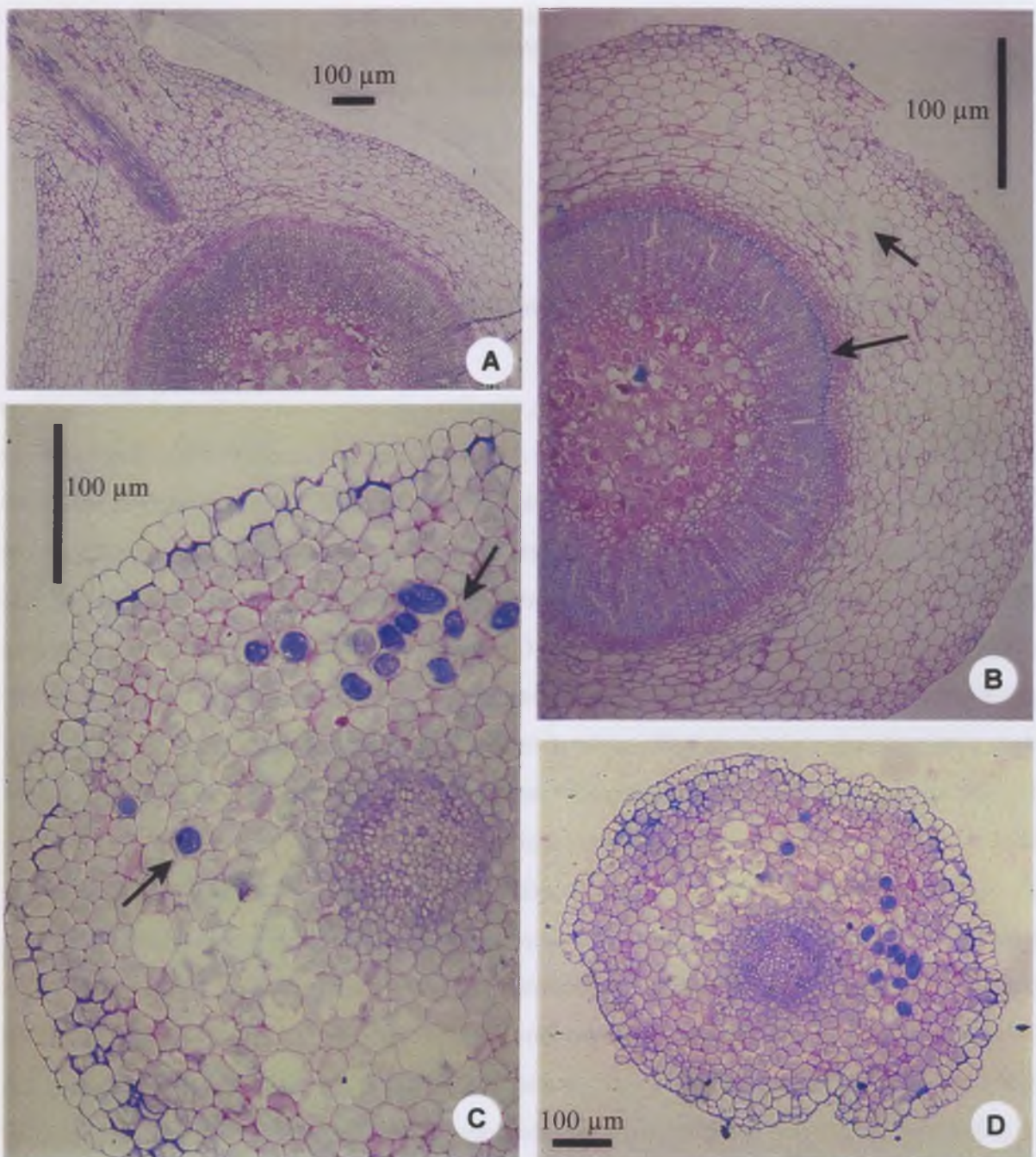
pivotante pour en atteindre le cortex.

2. *Modifications structurales des tissus parasités par Pratylenchus* : des modifications cellulaires sont observées dans les couches de cellules au voisinage des lésions occasionnées par la progression des nématodes. Des épaissements de la lamelle moyenne des parois pectocellulosiques sont constatés chez les cellules parenchymateuses des couches adjacentes aux lésions. Des réductions de volume cytoplasmique sont également observées chez certaines cellules proches des lésions. Autour de certaines lésions du cortex, des divisions cellulaires interviennent en nombre important, attestant d'une réaction de la plante avec tentative de reconstruction des tissus désorganisés.

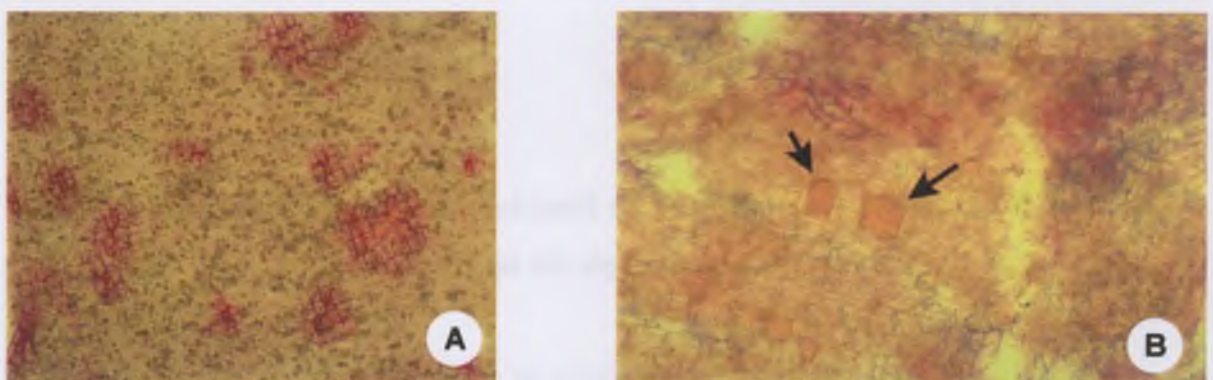
*Observations des infestations sur C. Canephora cv. Nemaya (figure 3.31 et 3.32):*

Les racines de plantules du cv. Nemaya révèlent une structure histologique classique. Aucune différence fondamentale dans la structure et l'organisation des tissus n'a été décelée entre les racines des jeunes plantules des deux cultivars Catuai et Nemaya. (Voir chapitre 1. § 1.4). Malgré la quasi absence d'observations de nématodes dans les racines écrasées de Nemaya, quelques individus de *Pratylenchus* de l'isolat Chitalon ont pu être observés sur les coupes réalisées avec des racines de ce cultivar. Une coupe transversale de très jeune racine latérale encore en croissance primaire a révélé l'infestation d'un groupe d'individus en position longitudinale par rapport à l'axe de la racine. On peut y voir le positionnement intracellulaire de la plupart des individus dans le parenchyme. Certains individus sont cependant observés dans l'espace intercellulaire. Il n'apparaît pas de modifications structurales majeures dans les tissus parasités par *Pratylenchus*. Des réactions au niveau du cambium ont cependant été observées avec semble-t-il une accélération du processus de lignification sur la partie externe du cylindre central en face d'une lésion importante au niveau du parenchyme cortical. La racine pivotante et les racines latérales du cultivar Nemaya montrent après écrasement de nombreuses gouttelettes de coloration jaune caractéristique de certains composés phénoliques. Certaines cellules encore intactes ont l'aspect caractéristique des idioblastes connus pour leur rôle de stockage de composés phénoliques. Leur contenu vacuolaire apparaît coloré en jaune. La présence de telles cellules ou de gouttelettes de composés phénoliques n'a pas été observée dans les racines de Catuai.





**Figure 3.31.** Coupes transversales de racines de jeunes plantules de *C. canephora* cv. Nemaya. **A** : racine pivotante saine avec émergence d'une racines latérale ; **B** : racine latérale montrant un processus de lignification au niveau du cambium en face d'une lésion occasionnée par *Pratylenchus* sp. (Isolat Chitalon) ; **C-D** : jeune racine latérale parasitée par plusieurs *Pratylenchus* sp.(isolat Chitalon) positionnés dans l'espace intra- et intercellulaire.



**Figure 3.32.** Vues de racines latérales de jeunes plantules de *C. canephora* cv. Nemaya, écrasées sur lame. **A** : gouttelettes de composés phénoliques ; **B** : cellules intactes du parenchyme avec leur vacuole contenant des composés phénoliques de couleur caractéristique jaune.

### **2.3.1.2. Discussion**

#### ***Comparaison de la dynamique de pénétration des isolats sur C. arabica cv. Catuai :***

Les isolats Moca, Chamtaca et Chitalon, montrent chacun un comportement différent dans leur dynamique de pénétration dans les racines de Catuai. Les racines de plantules de ce cultivar apparaissent très attractives pour l'isolat Chitalon qui de plus montre une apparente facilité pour infester ces racines. En revanche, bien qu'également prélevé sur caféiers, il semble que ces plantules de Catuai soient peu attractives pour l'isolat Chamtaca et/ou que cet isolat ait une certaine difficulté à pénétrer dans ces racines. Cependant, il semble que l'existence de barrières physiques aux pénétrations de nématodes en général ne soit pas efficace contre l'action combinée de la pénétration du stylet et de la libération d'enzymes par le nématode (Kaplan & Keen, 1980). Il pourrait donc s'agir en effet d'une moindre attractivité des plantules de Catuai vis-à-vis de cet isolat Chamtaca comparativement aux deux autres isolats. L'isolat Moca montre une dynamique de pénétration intermédiaire. Le nombre de nématodes appartenant à cet isolat Moca et ayant pénétré 96 heures après inoculation atteint presque les effectifs observés avec l'isolat Chitalon, c'est-à-dire presque 70% des nématodes inoculés. On peut penser que ce nombre correspond en moyenne au nombre maximum de nématodes inoculés susceptibles d'infester les racines, les autres ayant été lésés par la manipulation ou entraînés par l'eau de la suspension d'inoculation. En conditions naturelles où l'inoculum peut être considéré comme presque infini, on peut supposer que dans des conditions similaires de température avec un inoculum de taille illimitée le nombre de nématodes de l'isolat Chitalon infestant les racines de caféiers resterait toujours supérieur au nombre observé avec l'isolat Moca tout au moins dans les limites des racines disponibles. Des expérimentations dans les mêmes conditions mais avec des inoculations répétées dans le temps permettrait de vérifier cette hypothèse.

#### ***Localisation des sites de pénétration de Pratylenchus dans le système racinaire de C. arabica cv. Catuai et histopathologie des infestations :***

Bien qu'il apparaisse des zones préférentielles de pénétration, tout le système racinaire



des jeunes plantules de Catuai dans son ensemble, c'est-à-dire aussi bien le pivot que les racines latérales, a été infesté par les nématodes, dans les conditions de l'étude (figure 3.26).

L'isolat Moca présente une très forte proportion de nématodes ayant pénétré dans le pivot et plus particulièrement dans le tiers inférieur de celui-ci. Il est probable que le délai de latence de pénétration observé pour cet isolat (premières 24 heures après inoculation) entraîne dans un premier temps une répartition aléatoire des nématodes dans l'ensemble du cône et que par conséquent, la pénétration de ces parasites ait été ensuite plus importante dans la partie inférieure du cône où son diamètre diminue fortement vers le bas (voir chapitre 2 : figure 2.4), concentrant ainsi les nématodes à proximité du pivot. Radewald *et al.* (1971) avaient d'ailleurs observé une pénétration homogène de *P. coffeae* sur toute la longueur du pivot de jeunes plants de *Citrus jambhiri* disposé dans un tube de diamètre constant. Ces observations confortent donc l'hypothèse d'un artefact dû à la méthodologie et non pas d'un réel *preferendum* pour cette partie inférieure du pivot. Pour les trois isolats, la faible proportion de pénétration dans le tiers supérieur du pivot (moins de 10 % des pénétrations dans le pivot) montre que cette partie plus lignifiée est beaucoup moins attractive et/ou plus difficilement pénétrable par les nématodes des trois isolats.

La pénétration préférentielle "bipolaire" au niveau des extrémités des racines observée pour les trois isolats (figures 3.26-3.28) a également été observée par Bird (1959, 1960) pour les larves de *Meloidogyne javanica*. Sur différentes plantes hôtes, les larves de *M. javanica* pénètrent préférentiellement, d'une part au niveau de la zone d'élongation et du méristème apical et, d'autre part, au niveau des points d'émergence des racines latérales. Des densités de pénétrations de larves d'*Heterodera schachtii* sur *Brassica napus* supérieures aux deux extrémités des racines ont également été observées (Kampfe, 1960). De même des nécroses sur racines de *Brassica oleracea capitata* en pots ont été observées suite à des pénétrations de *P. penetrans* principalement au niveau des noeuds et des extrémités distales radiculaires (Acedo & Rohde, 1971). Il semble que *P. penetrans* pénètre dans les racines de plantules de diverses espèces végétales, principalement au niveau de la zone d'élongation des racines et dans une moindre mesure au niveau des zones d'émergence des racines latérales (Zunke, 1990).

Bien que des différences significatives n'aient pu être mises en évidence, l'isolat Chamtaca montre tout de même une tendance à pénétrer préférentiellement la zone d'élongation des racines



latérales plutôt que leur zone de jonction avec le pivot. De nombreux cas similaires sont mentionnées dans la littérature pour d'autres nématodes (Prot, 1980). C'est le cas pour : *Meloidogyne* spp. sur différents hôtes (Lindford, 1939) ; *Pratylenchus pratensis* (= *Anguillulina pratensis* Gaad & Loos, 1941) ; *Radopholus similis* sur *Citrus* (Du Charme, 1959) et sur *Musa* sp. (Valette, 1996). Cette zone s'est également révélé être une zone préférentielle de fixation pour certains nématodes ectoparasites tel que *Trichodorus viruliferus* sur *Malus pumila* ; *T. primitivus* sur *Prunus cerasus*, ainsi que sur cinq autres espèces appartenant au genre *Trichodorus* sur plantules de *Beta vulgaris* (Pitcher, 1967) . Bird (1962) ainsi que Lavallée & Rohde (1962) ont observé pour leur part un rôle important de la zone d'élongation dans l'attractivité à distance des racines de *Medicago sativa* (luzerne), *Lycopersicon esculentum* et *Daucus carota* pour *P. penetrans* ainsi que des racines de *L. esculentum* pour les larves de *M. javanica*.

*Heterodera schachtii* montre au contraire une très claire préférence pour pénétrer au niveau des points de jonction des racines latérales de *Brassica napus* et *Beta vulgaris*. Un faible degré d'infestation est observé au niveau de la zone distale des racines latérales (Kämpfe, 1960). L'observation des coupes transversales du pivot au niveau des émergences de racines latérales montre clairement une zone privilégiée de pénétration au niveau de la rupture d'épiderme entre pivot et racine latérale (figure 3.29). Radewald et al. (1971) ont observé le même phénomène pour *P. coffeae* sur *Citrus jambhiri*.

Enfin selon d'autres études, c'est la zone pilifère qui apparaît pour certains nématodes comme la zone préférentielle de pénétration dans les racines. Kumar (1982) observe que la plupart des pénétrations de *P. coffeae* sur racines de *C. arabica* ont lieu au niveau de la zone pilifère alors qu'un faible nombre seulement de pénétrations de ce nématode intervient au niveau de la zone d'élongation. Les mêmes observations ont été faites avec *P. penetrans* sur *Fragaria* sp. (Kurppa & Vrain, 1985) ainsi qu'avec *P. mediterraneus* sur *Vicia sativa* (Orion & Lapid, 1993).

L'attraction de ces zones préférentielles pour les nématodes est probablement une réponse à diverses combinaisons possibles de différents facteurs comme la diffusion de dioxyde de carbone et/ou de substances comme l'acide glutamique ou bien la présence de potentiels redox plus faibles (Bird, 1959, 1960 et 1962 ; Prot, 1980 ; Mateille, 1994). Les conditions de l'étude ne permettent pas d'élucider ni les mécanismes ni les étapes clé qui font que les zones d'émergence et d'élongation des racines latérales constituent des zones préférentielles de pénétration.

L'observation de la distribution agrégative des nématodes dans les racines témoigne de la pénétration de nombreux nématodes aux mêmes endroits. Radewald *et al.* (1971) ont également observé des pénétrations en masse de *P. coffeae* au niveau des points d'émergence des racines latérales de jeunes plants de *Citrus jambhiri*. Ces attaques par agrégats pourraient expliquer la formation des cavités de grande taille observées au niveau du parenchyme cortical qui évoluent ensuite en nécroses visibles à l'oeil nu comme le mentionnent également Radewald *et al.* (1971). Dans le cas d'attaques au niveau de la zone de division proche de l'apex, on peut supposer que ce genre de dégâts peut occasionner la destruction partielle ou totale du méristème entraînant ainsi l'arrêt de croissance de la racine comme l'ont constaté Bird (1962) et Radewald *et al.* (1971). Les épaississements de parois ainsi que les réductions de volume cytoplasmique des cellules corticales adjacentes ou proches des lésions observées sur les coupes (figures 3.29) sont également observées dans le cas d'infestation de Glycine max par *P. alleni* et *P. scribneri* (Acosta, 1982). Des observations ont également été faites dans le cas d'infestations par *Rotylenchulus reniformis* de racines de *C. arabica* collectées à Sao Tome (Vovlas & Lamberti, 1990).

Dans un premier temps, jusqu'à 96 heures après inoculation, il semble que les attaques de *Pratylenchus* se limitent au cortex en laissant indemne le cylindre central et en semblant même contourner l'endoderme. Cette invasion confinée au parenchyme cortical a également été observée dans le cas de *P. brachyurus* six mois après inoculation sur *Citrus* sp. (Brooks & Perry, 1967) au contraire de *Radopholus similis* qui selon les mêmes auteurs et dans les mêmes conditions occasionnent de très graves lésions dans le cylindre central des racines du même hôte ; de même pour *P. coffeae* 12 heures après inoculation sur *Citrus jambhiri* (Radewald *et al.*, 1971) et *P. penetrans* sur *Vicia faba* prélevée au champ (Vovlas & Troccoli, 1990). Le rôle de l'endoderme comme "barrière" contre l'invasion du cylindre central au moins de façon temporaire a déjà été décrit pour *P. penetrans* sur *Malus pumila* (Pitcher *et al.*, 1960), sur *Daucus carota* (Rohde, 1963), sur *Apium graveolens* (Townshend, 1963, a), sur *Fragaria* sp. (Townshend, 1963, b) sur *Medicago sativa* (Castillo & Rohde, 1965), sur *Brassica oleracea capitata* (Acedo & Rohde, 1971), sur *Pisium sativum* L. (Oyekan *et al.*, 1972) et sur *Vicia faba* (Vovlas & Troccoli, 1990). La fonction cytochimique impliquant l'action de polyphénols et le rôle dans les mécanismes de défense contre les divers agents pathogènes de l'endoderme a été largement évoquée par Van Fleet (1961) et Uritani (1963). Des études plus récentes mentionnent des structures lignifiées au



niveau de l'endoderme des plants résistants de bananiers empêchant pratiquement la pénétration de *Radopholus similis* dans les tissus vacuolaires contrairement à ce qui est observé chez les plants sensibles (Valette, 1996 ; Valette *et al.*, 1998). Il semble tout de même que cette protection par l'endoderme contre les attaques des nématodes ne soit pas toujours complète. Nos observations faites un mois après inoculation des nématodes révèlent en effet des attaques atteignant les couches externes du xylème secondaire. Des attaques par *P. coffeae* de l'endoderme de racines de *Citrus jambhiri* ont également constaté dès 12 heures après inoculation des nématodes (Radewald *et al.*, 1971). Selon ces mêmes auteurs, ces attaques au niveau de l'endoderme sont liées à des infestations en masse et pourraient être provoquées par une compétition pour l'alimentation.

En conclusion, s'il existe des différences entre isolats concernant leur dynamique de pénétration dans le temps et leur taux de pénétration, il n'apparaît pas par contre de différences majeures quant aux modalités de pénétration dans les racines de caféiers à savoir (1) une distribution agrégative des sites de pénétrations et (2) l'existence de zones préférentielles que sont pour ces jeunes plantules de *C. arabica* la zone d'émergence et la zone d'élongation des racines latérales ainsi que les deux tiers inférieurs du pivot. Une préférence de la zone d'élongation semble exister pour l'isolat Chamtaca mais elle doit être confirmée. Ce comportement grégaire de pénétration dans les racines au niveau des extrémités des racines latérales peut avoir des conséquences importantes sur la capacité de ces nématodes à causer des dégâts comme l'ont montré Radewald *et al.* (1971). D'une part, le comportement grégaire va favoriser comme décrit précédemment la formation de lésions importantes permettant plus facilement l'entrée de pathogènes secondaires. D'autre part, ces infestations concentrées au niveau de la région de croissance des racines auront probablement des conséquences importantes sur le développement du système racinaire de la plante. Les infestations au niveau des points d'émergence des racines latérales peuvent, elles, engendrer une dégénérescence complète de ces racines qui ont un rôle fondamental dans la nutrition de la plante. C'est ainsi que l'on observe chez les plants infestés au champ une disparition plus ou moins importante du chevelu racinaire.



***Structure de la population infestante des trois isolats dans les racines de C. arabica cv. Catuai :***

L'observation de tous les stades mobiles de *Pratylenchus* dans les racines depuis les néonates aux adultes montre que tous ces stades sont susceptibles de pénétrer dans les racines des jeunes plantules de *C. arabica*. L'infestation des racines de *Citrus jambhiri* par tous les stades mobiles de *P. coffeae* est également observée (Radewald *et al.*, 1971). Il en est de même pour *P. penetrans* sur *Pisium sativum* L. (Oyekan *et al.*, 1972) et sur *Vicia faba* (Vovlas & Troccoli, 1990). Plus récemment, Zunke (1990, a, b) a observé un comportement ecto- ou endoparasite de *P. penetrans* suivant le stade de développement considéré. Les premiers stades juvéniles se nourrissent préférentiellement sur les poils absorbants sans y pénétrer tandis que les adultes ont un comportement endoparasite en pénétrant dans le cortex des racines pour se nourrir des cellules parenchymateuses. Les juvéniles pénètrent parfois dans les racines en utilisant les orifices de pénétration des adultes. La présence d'oeufs dès 24 heures après inoculation montrent que les femelles peuvent pondre très rapidement après avoir pénétré dans les racines.

***Facteurs de résistance à *Pratylenchus* chez *C. canephora* cv. Nemaya :***

La quasi absence de pénétration des racines du cultivar Nemaya par les deux isolats Moca et Chitalon montre l'existence de facteurs de résistance chez ce cultivar. Ces facteurs de résistance peuvent être de deux ordres.

Au niveau préinfectieux, le cultivar Nemaya pourrait montrer une attractivité faible ou nulle ou une action répulsive de par les exsudats radiculaires perçus par les nématodes (Kaplan & Keen, 1980 ; Gommers, 1981 ; Caswell *et al.*, 1991). En suivant les mouvements *in vitro* de *P. coffeae* au voisinage de racines de plantules de caféiers, il a été montré que les nématodes mettaient plus de temps pour atteindre les racines d'un clone de *C. canephora* cv. Robusta résistant à *P. coffeae* et y pénétraient avec une moindre fréquence par rapport aux racines d'un cultivar sensible de *C. arabica* (Kumar, 1982). Ces différences d'attractivité entre plants résistants et sensibles ont été également observées dans le cas de *M. hapla* sur luzerne (Griffin, 1969). Les racines de *C. canephora* cv. Nemaya ont montré une organisation et une structure des tissus similaires à celles observées dans les racines de *C. arabica* cv. Catuai et ne semblent donc pas

posséder de structure particulière qui pourrait freiner la pénétration des nématodes. Pourtant, Toruan-Mathius *et al.* (1995) mentionnent une présence plus importante de poils absorbants sur les racines de clones résistants de *C. canephora* cv. Robusta à *P. coffeae* qui selon ces auteurs pourrait avoir un rôle de barrière physique pour les nématodes dans la phase de pénétration dans les racines. Les racines latérales de Nemaya paraissaient en effet montrer une densité de poils absorbants plus importante que sur les racines de Catuai. Cependant l'observation des racines écrasées n'a pas permis de quantifier cette variable. De plus, comme décrit antérieurement, les observations de notre étude ainsi que de nombreuses autres observations faites par d'autres auteurs sur d'autres plantes avec le genre *Pratylenchus* montrent que la pénétration des nématodes a lieu en grande partie sur les extrémités plutôt que dans la région pilifère. Seules les observations faites par Kumar (1982) sur racines de *C. arabica* cv. montrent une pénétration préférentielle au niveau de la zone pilifère. Une structure particulière de l'épiderme et de quelques couches de cellules du parenchyme cortical dont les parois cellulaires sont particulièrement épaisses et lignifiées a été également observée chez les clones de *C. canephora* cv. Robusta résistants à *P. coffeae* par Toruan-Mathius *et al.* (1995). Cependant, comme cela a déjà été mentionné pour le cas de la faible pénétration des racines de *C. arabica* par l'isolat Chamtaca, il semble selon de nombreux cas d'observations mentionnés dans la littérature que ce genre de barrière physique n'apparaît pas efficace dans la plupart des cas contre la pénétration des nématodes (Kaplan & Keen, 1980). Selon ces mêmes auteurs, cette incompatibilité nématode-plante au stade de la pénétration peut avoir lieu mais elle est très rare. Par ailleurs, l'isolat Chitalon qui n'a pratiquement pas pénétré dans les racines de Nemaya a été prélevé sur porte-greffes non sélectionnés de *C. canephora* âgés de trente ans sur lesquels les populations semblent s'être bien adaptées. Il est possible que les facteurs de résistance préinfectieux soient chez le cultivar Nemaya, mieux développés que chez la plupart des descendances libres d'arbres non sélectionnés de *C. canephora* et actuellement utilisées pour le greffage. Il est également possible d'envisager l'hypothèse d'une colonisation à long terme, en conditions naturelles, par cette population de nématodes, des racines de *C. canephora* dont la résistance à *Pratylenchus* spp. est incomplète.

Au niveau post-infectieux, des facteurs cytochimiques possibles de résistance ont pu être mis en évidence dans les racines de Nemaya. La présence de nombreuses cellules de stockage de

composés phénoliques dans des racines sans que la présence de nématodes ait été décelée montre que ces facteurs de résistance sont probablement de type constitutif. La présence de ce type de cellules dans le cortex des racines de clones de *C. canephora* cv Robusta résistants à *P. coffeae* a également été observée par Toruan-Mathius *et al.* (1995). Le rôle de ces substances dans les mécanismes de résistance aux nématodes a déjà été décrit par de nombreux auteurs pour divers cas de relations plante-nématodes (Kaplan & Keen, 1980 ; Gommers, 1981 ; Abrahamson *et al.*, 1991 ; Dalmasso *et al.*, 1992) et plus récemment dans le cas de *R. similis* sur *Musa* sp. (Valette, 1996; Valette *et al.*, 1998). Les nombreuses observations de contenus en acides chlorogéniques dans les grains verts plus élevés pour *C. canephora* que pour *C. arabica* (Carelli *et al.*, 1974) indiquent un métabolisme phénolique en général, de la plante, probablement plus important chez cette première espèce. L'observation d'une lignification plus importante de la partie externe du cylindre central en réaction semble-t-il à une infestation de *Pratylenchus* indique la possibilité d'existence de facteurs induits de résistance. Des études cytochimiques plus détaillées permettraient de vérifier l'existence de tels phénomènes. Il n'a pas été observé dans notre étude de cas similaire à celui de *P. penetrans* montrant des sorties rapides des racines de cultivars résistants de *Solanum tuberosum* après y avoir pénétré de la même façon que dans les racines de cultivars sensibles (France & Brodie, 1995 et 1996).



### **2.3.2. Etude comparative en pots de la capacité des isolats à causer des dégâts sur *C. arabica* et *C. canephora***

#### **2.3.2.1. Résultats**

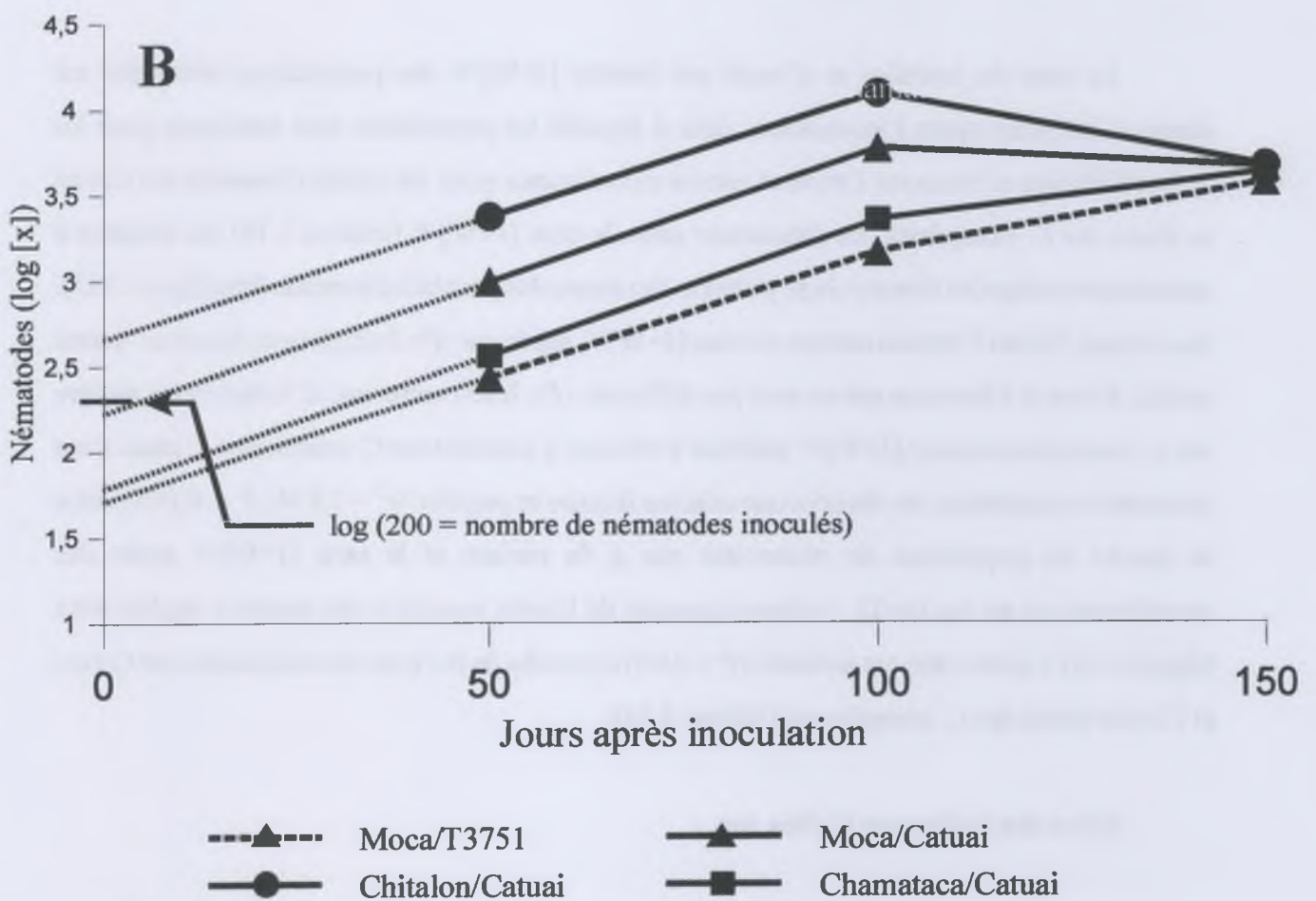
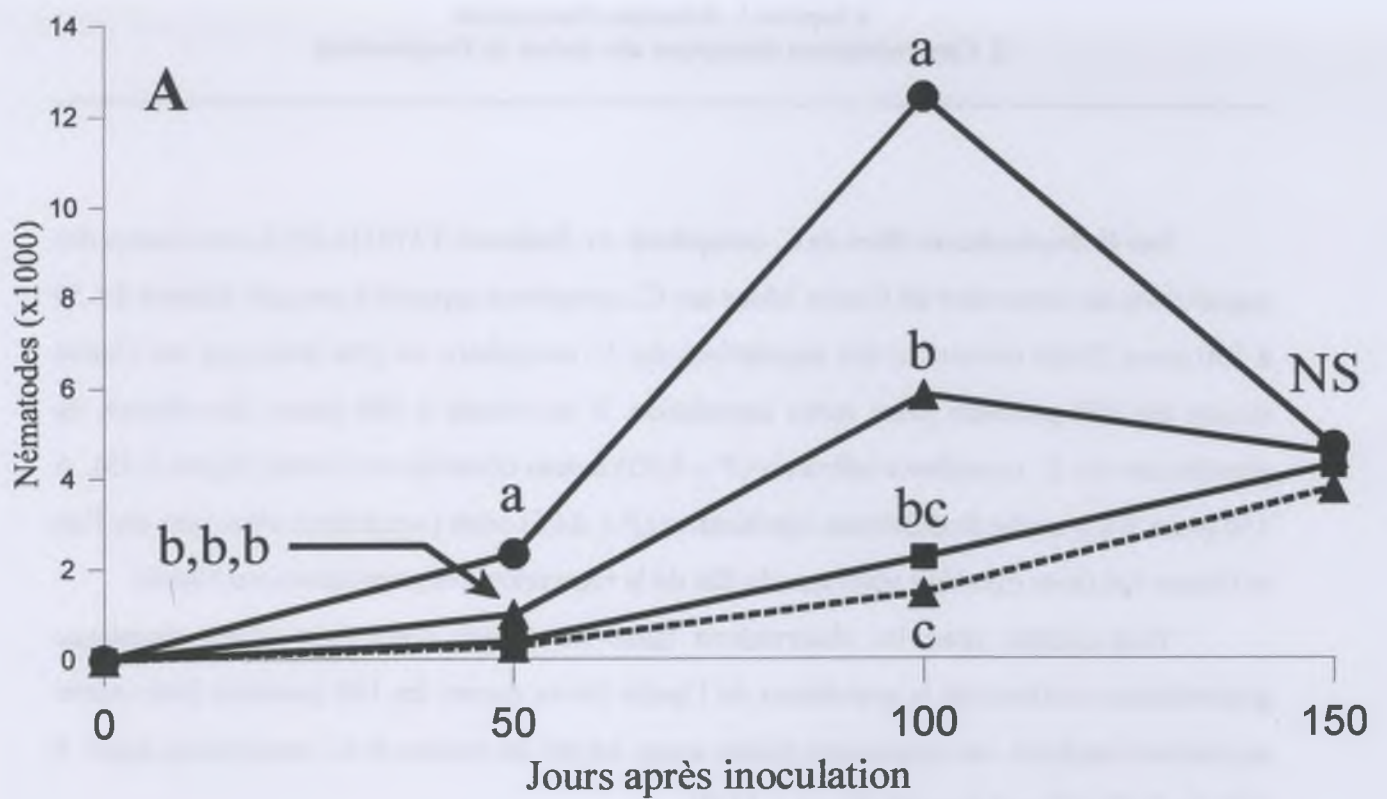
##### ***Capacité parasitaire des isolats sur Coffea spp. :***

**Sur *C. arabica* cv. Catuai :** 50 jours après inoculation, le nombre de nématodes par plant observé avec l'isolat Chitalon est supérieur ( $P \leq 0,05$ ) à ceux observés avec les isolats Moca et Chamtaca (figure 3.33). Il n'y a pas de différence significative ( $P \leq 0,05$ ) entre les niveaux de population de nématodes observés sur les plants infestés avec l'un ou l'autre des deux isolats Moca et Chamtaca.

A 100 jours après inoculation, la population totale de nématodes par plant est d'environ 13 000 pour l'isolat Chitalon. Elle est très supérieure ( $P \leq 0,001$ ) à celles observées avec les deux autres isolats Moca et Chamtaca qui comptent environ 6 000 et 2 000 nématodes, respectivement. C'est à cette date que l'on observe les populations maximales de nématodes pour les deux isolats Chitalon et Moca.

De 100 à 150 jours après inoculation, la population totale de nématodes par plant chute de plus de moitié pour l'isolat Chitalon. Pour l'isolat Moca, la population totale de nématodes par plant diminue également mais de façon moindre. Pour l'isolat Chamtaca, la population totale de nématodes par plant continue à augmenter durant cette période avec la même vitesse que celle déjà observée entre 50 et 100 jours. A 150 jours après inoculation, il n'y a pas de différence significative entre les niveaux de population des trois isolats Chitalon, Moca et Chamtaca ( $P \leq 0,05$ ) qui sont d'environ 4 000 nématodes.

L'expression logarithmique (figure 3.33 B) des effectifs de populations montre que l'hypothèse d'une croissance géométrique continue des populations durant les 100 premiers jours (par extrapolation des résultats obtenus à 50 et 100 jours) implique une population initiale dans les racines, voisine pour l'isolat Moca (81%), voire très supérieure pour l'isolat Chitalon (224%), au nombre total de nématodes initialement inoculés dans le sol, soit 200 nématodes. Pour l'isolat Chamtaca cette hypothèse implique une population initiale dans les racines d'environ 60 nématodes soit 30% de l'effectif total inoculé.



**Figure 3.33.** Populations de trois isolats de *Pratylenchus* sur des plants de *C. arabica* cv Catuai et d'une descendance libre du clone *C. canephora* cv. Robusta T3751 (1-2) à trois dates différentes après inoculation de 200 nématodes. A : données brutes de populations de nématodes ; B : données transformées en log[x]. Pour chaque date, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman et Keuls au seuil de  $P \leq 0,05$ . NS : Pas de différence significative au seuil de  $P \leq 0,05$ .



**Sur la descendance libre de *C. canephora* cv. Robusta T3751[1-2] :** La croissance des populations de nématodes de l'isolat Moca sur *C. canephora* apparaît à peu près linéaire de 50 à 150 jours. Cette croissance des populations sur *C. canephora* est plus lente que sur Catuai durant les 100 premiers jours après inoculation. Il en résulte à 100 jours, des niveaux de populations sur *C. canephora* inférieurs ( $P \leq 0,05$ ) à ceux observés sur Catuai (figure 3.33). A 150 jours il n'y a plus de différence significative ( $P \leq 0,05$ ) entre populations observées sur l'un et l'autre des deux matériels végétaux du fait de la régression des populations sur Catuai.

Tout comme pour les observations faites sur Catuai l'hypothèse d'une croissance géométrique continue de la population de l'isolat Moca durant les 100 premiers jours après inoculation implique une population initiale ayant infesté les racines de *C. canephora*, égale à 25% de l'effectif total inoculé (figure 3.33 B).

Le taux de juvéniles et d'oeufs par femelle  $[J+W]/\varphi$  des populations infestantes est observé 100 jours après l'inoculation, date à laquelle les populations sont maximum pour les isolats Chitalon et Moca sur Catuai et encore en croissance pour les isolats Chamtaca sur Catuai et Moca sur *C. canephora*. Le classement selon le taux  $[J+W]/\varphi$  (tableau 3.14) est similaire à celui observé selon les niveaux de population de nématodes par plant à la même date (figure 3.33). Sur Catuai, l'isolat Chitalon montre un taux  $[J+W]/\varphi$  supérieur ( $P \leq 0,05$ ) à ceux des deux autres isolats, Moca et Chamtaca qui ne sont pas différents ( $P \leq 0,05$ ) entre eux. L'isolat Moca montre sur *C. canephora* un taux  $[J+W]/\varphi$  inférieur à celui qu'il présente sur *C. arabica* cv. Catuai. Cent jours après inoculation, on observe une relation linéaire et positive ( $r^2 = 0,474$  ;  $P \leq 0,001$ ) entre la densité de population de nématodes par g de racines et le taux  $[J+W]/\varphi$  après des transformations en  $\log [x+1]$ , indépendamment de l'isolat inoculé et du matériel végétal testé (figure 3.34). Le sex-ratio est similaire ( $P \leq 0,05$ ) et proche de 0,6 pour les trois isolats sur Catuai et l'isolat Moca sur *C. canephora* (Tableau 3.14).

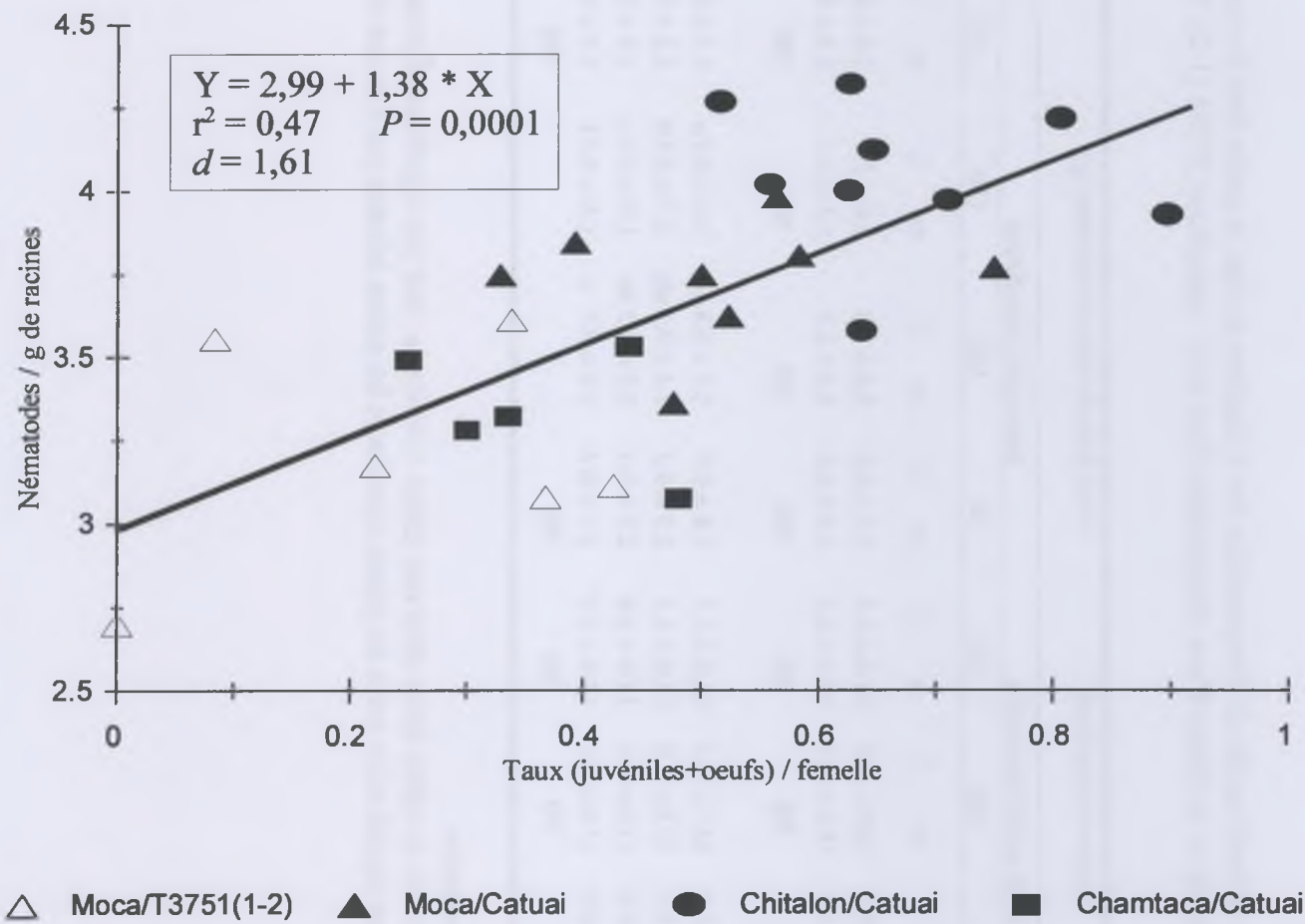
#### ***Effets des isolats sur Coffea spp. :***

Tant pour le cultivar Catuai que pour *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2], aucune différence significative ( $P \leq 0,05$ ) de hauteur de tige n'est observée entre plants témoins et plants infestés, pour chacun des trois isolats et aux trois dates de lecture (Tableau 3.15).



**Tableau 3.14** Taux moyen de juvéniles et oeufs par femelle ([J+W] / ♀) et indice andrique des populations de trois isolats de *Pratylenchus* sur plants de *C. arabica* cv. Catuai et plants d’une descendance libre de *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2], 100 jours après inoculation de 200 nématodes. Les moyennes suivies d’une même lettre ne sont pas différentes selon le test de Newman et Keuls au seuil  $P \leq 0,05$ .

Cultivar	Isolat	Rapport [J+W] / ♀	Indice andrique
Catuai	Chitalon	4,84 a	0,62
	Moca	3,51 b	0,61
	Chamtaca	2,63 bc	0,57
Robusta	Moca	1,84 c	0,57
		$F(3,27) = 10,82$	$F(3,27) = 0,16$
		$P < 0,001$	$P = 0,92$
		$\sigma = 1,15$	$\sigma = 0,04$



**Figure 3.34.** Relation entre la densité de population de *Pratylenchus* par gramme de racines et le taux de (juvéniles et oeufs) / femelle sur plants de *C. arabica* cv Catuai et d’une descendance libre du clone *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2], 100 jours après l’inoculation de 200 nématodes. Les deux variables sont transformée en  $\log[X+1]$ .  $d$  : test de Durbin-Watson

**Tableau 3.15.** Effet de trois isolats de *Pratylenchus* sur la hauteur de tige, le poids frais de racines, le poids frais de la partie aérienne et le poids frais total de plants de *C. arabica* cv. Catuai et de plants d’une descendance libre de *C. canephora* T3751 (1-2), 50, 100 et 150 jours après l’inoculation de 200 nématodes.

		Hauteur de tige (cm)						Poids frais de la partie aérienne (g)						Poids frais de racines (g)						Poids frais total (g)					
		Jours après inoculation						Jours après inoculation						Jours après inoculation						Jours après inoculation					
Inoculum		50		100		150		50		100		150		50		100		150		50		100		150	
		<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□	<i>m</i>	□
Robusta	Témoin	14.0 ± 2.5		14.9 ± 1.8		14.4 ± 1.8		3.5 ± 0.6		5.8 ± 1.6		5.4 ± 1.5		1.6 ± 0.4		3.1 ± 1.1		2.7 ± 0.7		5.0 ± 1.0		8.9 ± 2.6		8.1 ± 2.2	
	Moca	15.9 ± 1.8		16.3 ± 1.7		19.2 ± 2.3		3.4 ± 0.9		5.2 ± 1.1		5.3 ± 1.4		1.5 ± 0.3		2.3 ± 0.4		2.2 ± 0.7		4.9 ± 1.1		7.6 ± 0.9		7.4 ± 2.0	
		NS		NS		NS		NS		NS		NS		NS		NS		NS		NS		NS		NS	
Catuai	Témoin	13.3 ± 1.2		14.7 ± 1.5		15.6 ± 1.1		2.8 ± 0.6		3.7 ± 0.8 a		3.6 ± 0.8 a		1.5 ± 0.4		2.4 ± 0.6 a		1.8 ± 0.3 a		4.3 ± 1.0		6.1 ± 1.3 a		5.3 ± 1.1 a	
	Chamtaca	13.1 ± 0.7		13.8 ± 1.0		15.0 ± 1.1		2.9 ± 0.5		3.4 ± 0.3 ab		2.7 ± 0.8 b		1.3 ± 0.1		1.6 ± 0.3 bc		1.5 ± 0.3 ab		4.2 ± 0.6		4.9 ± 0.5 b		4.2 ± 1.0 b	
	Moca	13.7 ± 0.8		13.5 ± 0.5		14.0 ± 0.6		2.9 ± 0.4		2.9 ± 0.5 bc		1.8 ± 0.8 c		1.4 ± 0.2		1.9 ± 0.4 ab		1.1 ± 0.3 bc		4.3 ± 0.5		4.8 ± 0.6 b		2.9 ± 1.0 c	
	Chitalon	13.6 ± 0.9		13.6 ± 1.1		14.6 ± 1.0		2.7 ± 0.4		2.4 ± 0.7 c		1.5 ± 0.5 c		1.4 ± 0.1		1.4 ± 0.4 c		0.9 ± 0.4 c		4.1 ± 0.5		3.8 ± 0.9 c		2.4 ± 0.8 c	
		NS		NS		NS		NS						NS						NS					

*m* : moyenne  
 □ : écart type à la moyenne

Les moyennes suivies de la même lettre dans une même colonne ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman et Keuls au seuil *P* ≤ 0,05.  
 NS: Pas de différence significative entre les plants témoins et les plants infestés par l’un des trois isolats pour chacun des deux cultivars (*P* ≤ 0,05).

**Sur *C. arabica* cv. Catuai :** 50 jours après inoculation, il n'y a pas d'effet significatif ( $P \leq 0,05$ ) de l'infestation d'aucun des trois isolats sur les poids frais des racines ou de la partie aérienne (Tableau 3.15).

A 100 jours après inoculation, seuls les plants infestés avec l'isolat Chitalon présentent à la fois des poids frais de racines et de la partie aérienne, significativement inférieurs ( $P \leq 0,05$ ) à ceux des plants témoins (Tableau 3.15). Les plants infestés avec l'isolat Chamtaca présentent un poids frais de la partie aérienne inférieur à celui des plants témoins ( $P \leq 0,05$ ) tandis qu'aucune différence significative ( $P \leq 0,05$ ) n'est observée pour le poids frais de racines. Pour l'isolat Moca, c'est l'inverse, seul le poids frais de racines des plants infestés est significativement inférieur ( $P \leq 0,05$ ) à celui des plants témoins alors qu'aucune différence significative ( $P \leq 0,05$ ) n'est observée pour le poids frais de la partie aérienne. Les plants infestés avec l'isolat Chitalon présentent un poids frais de la partie aérienne inférieur ( $P \leq 0,05$ ) à celui des plants infestés avec l'isolat Chamtaca mais pas différent ( $P \leq 0,05$ ) de celui des plants infestés avec l'isolat Moca ( $P \leq 0,05$ ). C'est l'inverse avec le poids frais des racines, celui des plants infestés avec l'isolat Chitalon est inférieur ( $P \leq 0,05$ ) à celui des plants infestés avec l'isolat Moca mais pas différent ( $P \leq 0,05$ ) de celui des plants infestés avec l'isolat Chamtaca ( $P \leq 0,05$ ). Toujours à la même date, quel que soit l'isolat inoculé, le poids frais total des plants infestés est inférieur ( $P \leq 0,05$ ) à celui des plants témoins. Le poids frais total des plants infestés avec l'isolat Chitalon est inférieur ( $P \leq 0,05$ ) à ceux des plants infestés avec les isolats Moca ou l'isolat Chamtaca. Pour ces deux derniers isolats (Moca et Chamtaca), il n'y a pas de différence significative entre leurs poids frais totaux ( $P \leq 0,05$ ).

A 150 jours après inoculation, quel que soit l'isolat, le poids frais de la partie aérienne et le poids frais total des plants infestés sont tous deux inférieurs à ceux des plants témoins ( $P \leq 0,05$ ). Ces deux poids frais sont similaires ( $P \leq 0,05$ ) pour les plants infestés avec l'isolat Chitalon et les plants infestés avec l'isolat Moca et inférieurs ( $P \leq 0,05$ ) aux poids frais des plants infestés avec l'isolat Chamtaca. Les plants infestés avec l'isolat Chitalon et Moca ne montrent pas de différence significative ( $P \leq 0,05$ ) entre eux pour ces deux variables végétatives.

Le poids frais de racines 150 jours après inoculation des plants infestés avec l'isolat Chitalon est inférieur ( $P \leq 0,05$ ) à celui des plants témoins. Pour les isolats Chamtaca et Moca, la tendance est inversée entre eux deux par rapport à l'observation du poids frais de racines à 100 jours. En effet, le poids frais de racines des plants inoculés avec l'isolat Moca n'est plus différent



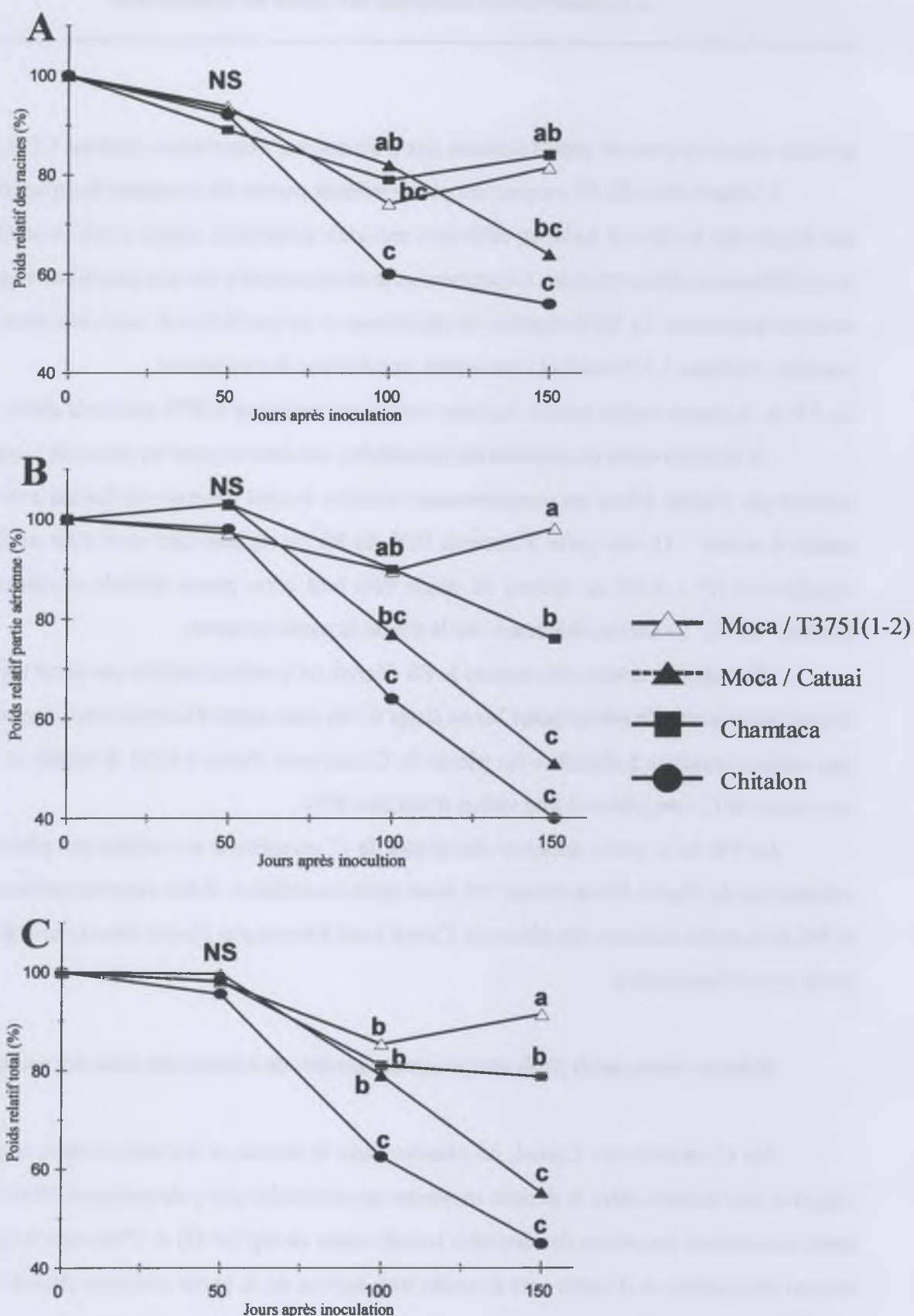
( $P \leq 0,05$ ) de celui des plants infestés avec l'isolat Chitalon et devient significativement inférieur ( $P \leq 0,05$ ) à celui des plants témoins. En revanche le poids frais de racines des plants infestés avec l'isolat Chamtaca n'est plus différent ( $P \leq 0,05$ ) de celui des plants témoins et devient significativement supérieur ( $P \leq 0,05$ ) à celui des plants infestés avec l'isolat Chitalon. Il n'y a toujours pas de différence significative ( $P \leq 0,05$ ) entre ces deux isolats Chamtaca et Moca pour le poids frais de racines.

Le suivi dans le temps des plants infestés en terme de poids frais relatif moyen (exprimé en pourcentage du poids frais moyen des plants témoins à la même date : Pfr) permet de se libérer de l'effet dépressif des conditions de culture constaté chez les plants témoins (figure 3.35).

A 50 jours après inoculation des nématodes, pour les trois isolats, il apparaît déjà une perte d'environ 10% du Pfr de racines même si le poids frais brut de racines des plants infestés n'est pas significativement différent ( $P \leq 0,05$ ) de celui des plants témoins (tableau 3.15). A cette même date, le poids frais de la partie aérienne de ces plants ne semble pas affecté.

Ensuite, entre 50 et 150 jours après inoculation des nématodes, on observe une perte graduelle de Pfr de la plante entière pour les trois isolats mais avec des intensités différentes (figure 3.35 C). Les plants infestés par l'isolat Chitalon ou l'isolat Moca apparaissent à 150 jours, avec des Pfr de 45% et 55% respectivement, plus affectés que les plants infestés par l'isolat Chamtaca qui présentent un Pfr de 80%. Au niveau des racines, la perte de Pfr évolue de manière différente suivant l'isolat considéré (figure 3.35 A). Pour les plants infestés avec l'isolat Chitalon on observe une accélération de la perte de leur Pfr de racines qui chute à 55% à 150 jours. Pour les plants infestés avec l'isolat Moca, le Pfr de racines continue à diminuer avec la même vitesse pour tomber à 65%. Pour les plants infestés avec l'isolat Chamtaca, le Pfr de racines semble peu affecté et reste supérieur à 80%. Au niveau de la partie aérienne, pour les trois isolats, on observe une perte graduelle du Pfr mais avec des vitesses différentes. Il en résulte à 150 jours des Pfr de 40%, 50% et 75% pour les isolats Chitalon, Moca et Chamtaca, respectivement.

**Sur la descendance libre de *C. canephora* cv. Robusta T3751[1-2] :** le poids frais de racines, le poids frais de la partie aérienne et le poids frais total des plants de *C. canephora* cv. Robusta T3751[1-2] infestés avec l'isolat Moca ne sont pas significativement ( $P \leq 0,05$ ) différents



**Figure 3.35.** Evolution des poids frais relatifs moyens (en % du poids frais moyen des plants témoins), A : des racines ; B : de la partie aérienne et C : de la plante entière, pour les plants de *C. arabica* cv. Catuai et de *C. canephora* T3751 (1-2), 100 jours après inoculation de 200 nématodes appartenant à un de trois isolats de *Pratylenchus*. Chaque point représente la moyenne des plants inoculés 90 jours après semis en pots de 2,5 litres pour chaque isolat. Comme information supplémentaire, on a indiqué pour chaque moyenne de poids frais relatif le classement, selon le test de Newman & Keuls, des poids frais bruts correspondants, sachant que la lettre *a* était attribuée aux témoins ; ceux ci ne sont pas différents ( $P \leq 0,05$ ) lorsqu'il leur est attribué une même lettre.

de ceux observés pour les plants témoins aux trois dates d'observation (tableau 3.15).

L'observation du Pfr moyen des plants infestés permet de comparer la capacité à causer des dégâts des isolats sur les deux différents matériels génétiques (figure 3.35) en se libérant de leurs différences phénotypiques. Cependant cette comparaison n'est que graphique s'agissant de données moyennes. Le faible nombre de répétitions et un coefficient de variation élevé pour ces variables (tableau 3.15) rendent sans intérêt une analyse de covariance.

Le Pfr de la plante entière tend à diminuer mais reste supérieur à 80% aux trois dates.

- A 50 jours après inoculation des nématodes, on observe pour les plants de *C. canephora* infestés par l'isolat Moca un comportement similaire à celui observé sur Catuai avec les trois isolats à savoir : 1) une perte d'environ 10% du Pfr de racines sans qu'il y ait de différence significative ( $P \leq 0,05$ ) au niveau du poids frais brut entre plants infestés et plants témoins (tableau 3.15) ; 2) aucune incidence sur le Pfr de la partie aérienne.

- Ensuite, au niveau des racines, le Pfr décroît de la même manière que pour les plants de Catuai infestés avec le même isolat Moca jusqu'à 100 jours après l'inoculation. Cependant alors que celui-ci continue à décroître sur plants de Catuai pour chuter à 65%, il semble se stabiliser sur plants de *C. canephora* à une valeur d'environ 80%.

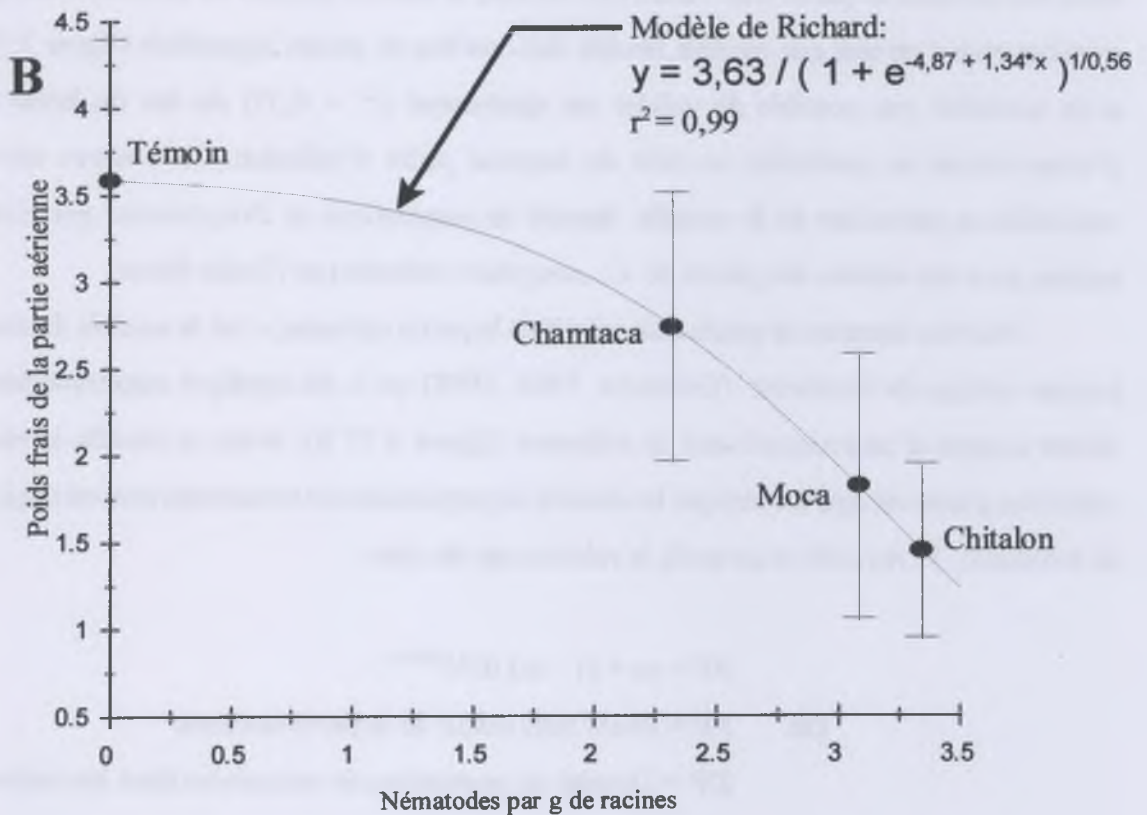
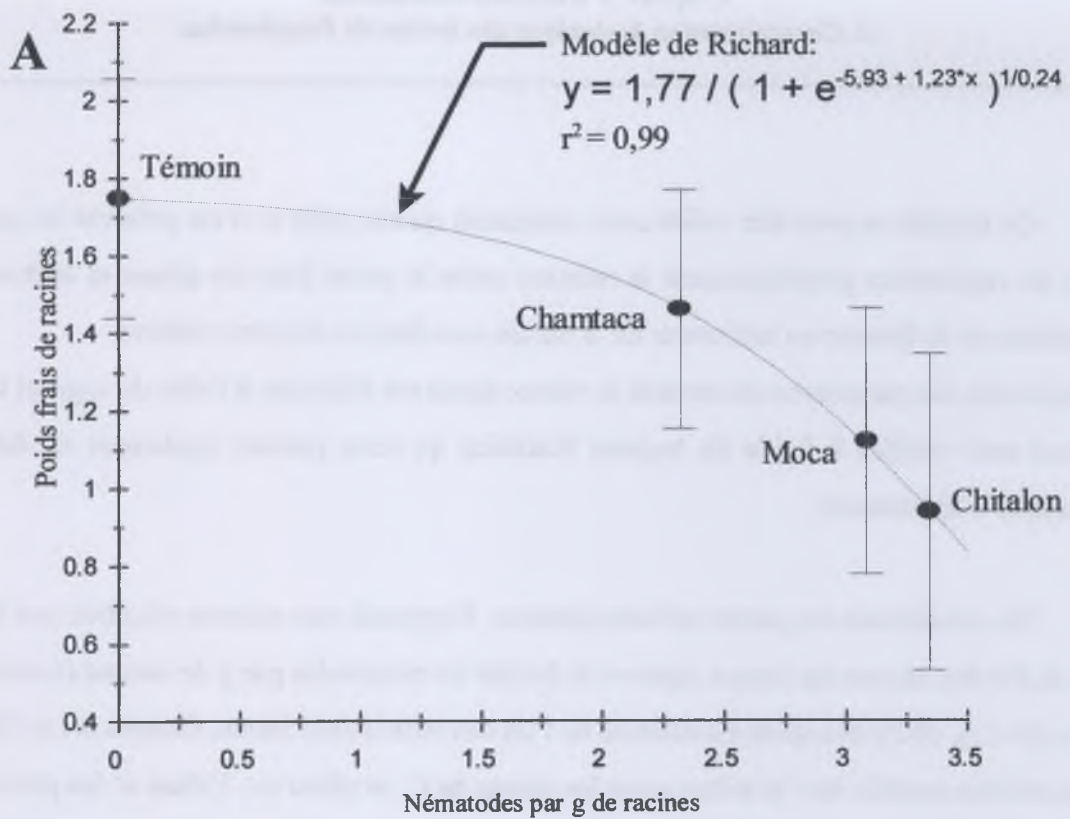
Le Pfr de la partie aérienne des plants de *C. canephora* ne semble pas affecté par les infestations de l'isolat Moca même 150 jours après inoculation. Il faut rappeler qu'en revanche, le Pfr de la partie aérienne des plants de Catuai aussi infestés par l'isolat Moca chute à 50% 150 jours après l'inoculation.

#### ***Relation entre poids frais des plants et densités de nématodes dans les racines :***

Sur *C. arabica* cv. Catuai, on observe pour le témoin et les trois isolats, une relation négative non linéaire entre la densité moyenne de nématodes par g de racines à 50 et 100 jours après inoculation (moyenne des données transformées en  $\log [x+1]$ ) et d'une part le poids frais moyen des racines et d'autre part le poids frais moyen de la partie aérienne (figure 3.36). Le modèle général de Richard pour les courbes de nature sigmoïdale (Tomassone *et al.*, 1993) s'ajuste bien aux quatre points moyens pour les deux variables, Pfr des racines et Pfr de la partie aérienne :

$$y = a / (1 + e^{-b+c*x})^{1/d}$$





**Figure 3.36.** Relation entre la moyenne des densités de nématodes par g de racines à 50 et 100 jours (moyenne des nombres de nématodes transformés en  $\log[x+1]$ ) et le poids frais moyen des racines (A) et le poids frais moyen de la partie aérienne (B) des plants de *C. arabica* cv. Catuai 150 jours après inoculation de 200 nématodes de chacun des trois isolats de *Pratylenchus*.

Ce modèle ne peut être validé avec seulement quatre points et n'est présenté ici que dans le but de représenter graphiquement la relation entre le poids frais des plants et la densité de nématodes et de fournir un indicateur de la nature non linéaire de cette relation.

La recherche des paramètres du modèle le mieux ajusté est effectuée à l'aide du logiciel CurvX. Ceux-ci sont vérifiés à l'aide du logiciel Statistica qui nous permet également de définir la probabilité d'ajustement.

En considérant les plants individuellement, il apparaît une relation négative non linéaire entre le Pfr des racines de chaque plant et la densité de nématodes par g de racines (transformée en  $\log [x+1]$ ), 100 jours après inoculation de l'un des trois isolats Moca, Chamtaca ou Chitalon. Cette relation semble être la même pour les plants de *C. arabica* cv. Catuai et les plants de la descendance libre du clone *C. canephora* cv. Robusta T3551[1-2] (figure 3.37).

Pour les données de poids frais relatif des racines, le modèle général de Richard a été appliqué empiriquement en tant que modèle flexible des courbes de nature sigmoïdale (figure 3.37 A). Il n'est toutefois pas possible de valider cet ajustement ( $r^2 = 0,37$ ) du fait du faible nombre d'observations en particulier au delà du supposé point d'inflexion. On observe une grande variabilité en particulier de la variable densité de populations de *Pratylenchus* par gramme de racines pour les valeurs des plants de *C. canephora* infestés par l'isolat Moca.

Pour les données de poids frais relatif de la partie aérienne, c'est le modèle de croissance à point critique de Seinhorst (Seinhorst, 1965, 1998) qui a été appliqué empiriquement pour rendre compte d'un éventuel seuil de tolérance (figure 3.37 B). Selon ce modèle le poids frais relatif des plants est égal à 1 lorsque les densités de populations de nématodes sont en deçà du seuil de tolérance, T. Au delà de ce seuil, la relation est du type :

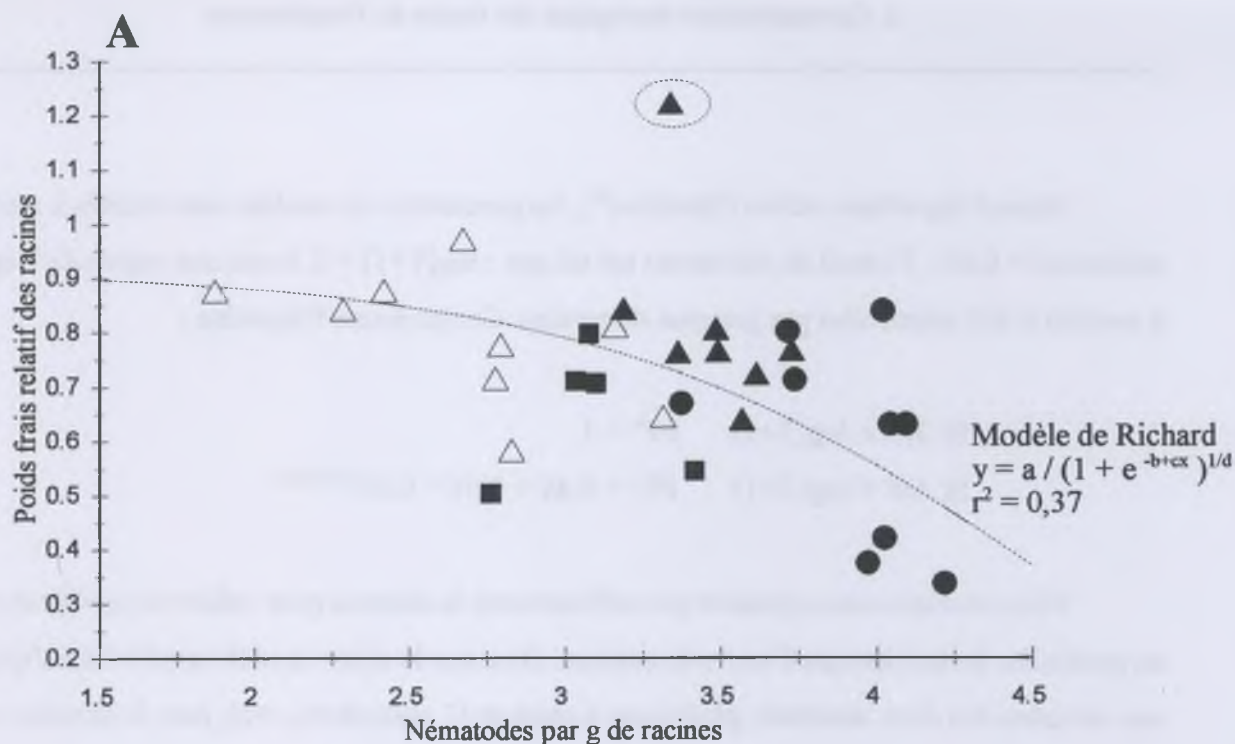
$$PF' = m + (1 - m) 0.95^{DP/T-1}.$$

Où PF' = Poids frais relatif de la partie aérienne

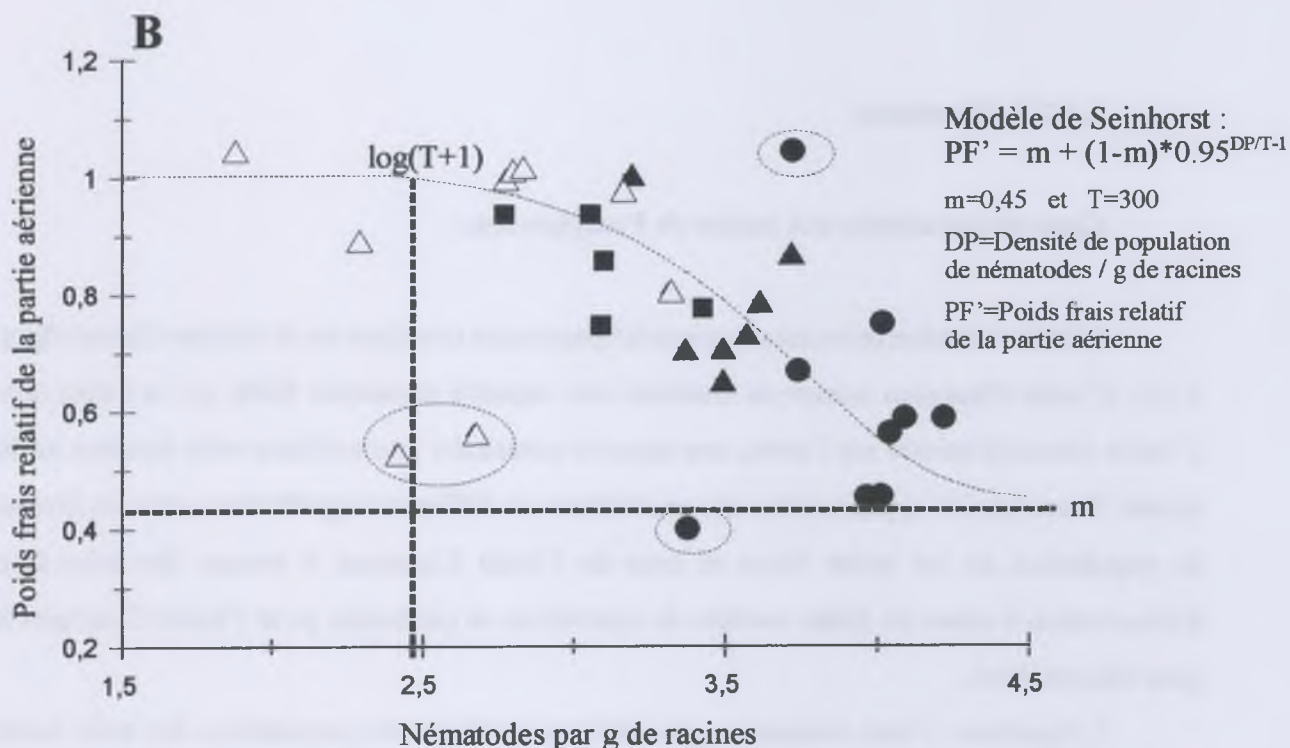
DP = Densité de population de nématodes dans les racines

m = Poids frais minimum

T = Seuil de tolérance



Catuai infesté par l'isolat : Moca ▲ Chamtaca ■ Chitalon ●  
 T 3751 [1-2] infesté par l'isolat Moca △



Catuai infesté par l'isolat : Moca ▲ Chamtaca ■ Chitalon ●  
 T 3751 [1-2] infesté par l'isolat Moca △

**Figure 3.37.** Relation entre la densité de nématodes par g de racines et le poids frais relatif des racines (A) et de la partie aérienne (B) des plants de *C. arabica* cv. Catuai et des plants d'une descendance libre de *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2] à 100 jours après inoculation de 200 nématodes pour trois isolats de *Pratylenchus*. Les points extrêmes (encerclés) n'ont pas été pris en compte pour évaluer les paramètres des modèles d'ajustement.



Selon l'algorithme utilisé (Statistica®), les paramètres du modèle sont évalués à :  $m$  (Pfr minimum) = 0,45 ;  $T$  (seuil de tolérance) est tel que :  $\log[T+1] = 2,5$  soit une valeur de  $T$  égale à environ à 300 nématodes par gramme de racines. Ce qui donne l'équation :

$$\text{Si } DP \leq \log(T+1) \quad PF' = 1$$

$$\text{Si } DP > \log(T+1) \quad PF' = 0,45 + 0,55 * 0,95^{DP / 300 - 1}$$

Nous ne disposons cependant pas suffisamment de données pour valider ce modèle et pour en particulier les asymptotes d'une telle relation. Bien que le même modèle semble bien s'ajuster aux données des deux matériels génétiques Catuai et *C. canephora*, trop peu de données sont disponibles pour confirmer que les paramètres d'une telle relation sont similaires pour les plants de Catuai et de *C. canephora*, en particulier au niveau du seuil de tolérance  $T$ .

### **2.3.2.2. Discussion**

#### ***Capacité parasitaire des isolats de Pratylenchus :***

L'isolat Chitalon présente une capacité parasitaire très forte sur le cultivar Catuai (figure 3.33). L'isolat Chamtaca montre au contraire une capacité parasitaire faible sur ce même hôte. L'isolat Moca lui montre sur Catuai, une capacité parasitaire intermédiaire entre les deux autres isolats. Toutefois il n'a pas pu être mis en évidence de différence significative entre les niveaux de populations de cet isolat Moca et ceux de l'isolat Chamtaca à aucune des trois dates d'observation à cause du faible nombre de répétitions en particulier pour l'isolat Chamtaca (6 pour chaque date).

L'hypothèse d'une croissance géométrique continue des populations des trois isolats durant les 100 premiers jours après inoculation, selon un modèle malthusien, est à réfuter dans tous les cas. Même pour l'isolat Chamtaca une population infestante initiale correspondant à 30% de l'effectif total inoculé semble peu probable au vu des résultats de la dynamique de pénétration obtenus pour cet isolat. Au cours de cette étude, environ 6% des nématodes inoculés avaient pénétré et ce, dans des conditions favorisant le contact de l'inoculum avec les racines du fait d'un

volume réduit de substrat utilisé lors de cette étude. Il apparaît donc que pour les trois isolats et dans les conditions de l'étude, la croissance géométrique des populations de nématodes est freinée très rapidement, avant la date de 50 jours après inoculation.

Au delà de 100 jours après inoculation, la dégradation du système racinaire due aux attaques des nématodes entraîne même une régression des populations pour les isolats les plus agressifs, Moca et surtout Chitalon. Cette dégradation des racines entraîne une diminution de l'espace disponible et des ressources alimentaires. Cela se traduit soit par une mortalité importante de nématodes soit par une migration des nématodes des racines vers le sol. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Anzueto (1993) qui avait observé sur plants de Catuai du même âge des populations maximales de *Pratylenchus* de l'isolat Buena Vista, 120 jours après avoir inoculé 100 nématodes et entre 60 et 120 jours après avoir inoculé 300 nématodes, respectivement. Anzueto (1993) avait également observé une dégradation des racines des plants de Catuai à partir de 4 mois après inoculation de ces deux doses mentionnées de nématodes. Radewald & O'Banon (1971, a, b) ont montré que *P. coffeae* était capable de se multiplier très rapidement sur *Citrus* en pots en provoquant des détériorations importantes de racines qui entraînent à leur tour des chutes rapides des niveaux de populations. L'isolat Moca, d'agressivité moindre, présente une baisse de populations plus faible comparativement à l'isolat Chitalon. Les effectifs maximum de l'isolat Moca ont probablement été atteints ultérieurement à ceux de l'isolat Chitalon entre 100 et 150 jours après inoculation. Cette hypothèse est renforcée par le fait que durant cette même période, le taux relatif d'accroissement de la population de l'isolat Moca est supérieur à celui de l'isolat Chitalon.

La capacité parasitaire de l'isolat Moca sur *C. canephora* est très inférieure à celle qu'il présente sur Catuai (figure 3.33). Il existerait donc chez cette descendance libre de *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2] des facteurs de résistance vis-à-vis de l'isolat Moca. Il reste à définir si le niveau de résistance de ce matériel génétique varie ou pas vis-à-vis des autres isolats de *Pratylenchus*.

La capacité parasitaire des isolats étudiés sur un hôte donné apparaît directement liée au taux de juvéniles et d'oeufs par femelle ( $[J+W]/♀$ ) observé dans la population (figure 3.33) quel que soit l'isolat ou l'hôte. Ce taux observé dans la population à un moment donné va dépendre

avant tout de la fertilité des femelles, elle-même définie par la fécondité des femelles (production d'oeufs), le taux d'éclosion des oeufs et la survie des néonates. Elle dépend également de la survie des femelles. On peut considérer que le taux  $[J+W]/♀$  observé pour un isolat donné sur un hôte donné constitue un bon indicateur de la capacité reproductive de cet isolat sur cet hôte.

Le maintien de différents isolats de *R. similis* dans les même conditions d'élevage monoxénique sur rondelles de carottes *in vitro* jusqu'à 29 mois n'a pas affecté leur capacité parasitaire sur bananiers (Davide, 1992 ; Fallas, 1995). Les isolats de *Pratylenchus* de l'étude ont été maintenus en élevage monoxénique sur rondelles de carottes *in vitro* durant seulement 11 mois. On peut donc penser qu'il n'y a pas eu non plus dans le cas présent de dérive génétique importante.

***Capacité des isolats de *Pratylenchus* à causer des dégâts sur *Coffea* spp. (tableau 3.15 ; figure 3.35) :***

La hauteur des tiges qui n'apparaît pas affectée de manière significative par les attaques de *Pratylenchus* (tableau 3.15) n'est donc pas une variable appropriée pour l'évaluation de la capacité de ce nématode à causer des dégâts sur jeunes caféiers. La même observation avait faite pour les bananiers parasités par *Radopholus similis* (Fallas, 1995).

En revanche, en accord avec les observations faites sur la capacité parasitaire des isolats, les même différences entre isolats sont observées pour la capacité à causer des dégâts, ici mesuré par les pertes de poids frais au niveau de la partie aérienne et de la partie racinaire, en relation avec le témoin. L'isolat Chitalon apparaît très pathogène alors que les plants infesté par l'isolat Chamtaca manifestent peu de dégâts. Concernant l'isolat Chamtaca, on peut s'interroger sur l'évolution ultérieure des populations et des dégâts causés par celles-ci. Il se peut qu'un certain équilibre soit atteint pour cet isolat entre les dégâts que causent ses populations en croissance lente et la croissance du système racinaire. Cette dernière compenserait la destruction de racines dues aux attaques de nématodes. Il se peut également que cet isolat Chamtaca ait un effet destructeur similaire à celui des deux autres isolats et que les manifestations des dégâts ne soit en fait que retardée.



Les pertes de Pfr au niveau de la partie racinaire, observées dès les 50 premiers jours de l'étude, apparaissent plus tôt que pour la partie aérienne (figure 3.35). Il peut s'agir d'un simple décalage dans le temps entre les effets sur les racines et leur répercussion sur la partie aérienne. On ne peut toutefois exclure l'existence d'un certain seuil de tolérance de la plante correspondant à un niveau de dégâts du système racinaire qu'elle peut supporter avant que sa partie aérienne ne soit affectée. En revanche, une fois le processus de perte de Pfr initié au niveau de la partie aérienne, ces pertes évoluent plus vite que pour la partie racinaire.

La faible capacité parasitaire de l'isolat Moca sur les plants de la descendance libre de *C. canephora* T3751[1-2] se traduit par de moindres dégâts au niveau des racines que sur Catuai (figure 3.35). En conséquence, la partie aérienne des plants de *C. canephora* ne semble pas être affectée par ces attaques faibles de l'isolat Moca. On peut cependant remarquer que les plants de *C. canephora* infestés par l'isolat Moca montrent des Pfr de leur partie racinaire similaires à ceux observés avec les plants de Catuai infestés par l'isolat Chamtaca en accord avec les niveaux de populations similaires ( $P \leq 0,05$ ) observés aux trois dates pour ces deux pathosystèmes (figure 3.33). En revanche, les Pfr de la partie aérienne de ces plants de *C. canephora* infestés par l'isolat Moca, effectivement peu ou pas affectés sont à 150 jours, supérieurs à ceux observés pour les plants de Catuai infestés par l'isolat Chamtaca. On peut donc penser que, selon l'une des deux hypothèses précédemment exposées sur la tolérance de la partie aérienne, cette dernière tolérerait mieux certaines quantités de dégâts radiculaires chez les plants de *C. canephora* que chez les plants de Catuai. Cette hypothèse reste cependant à confirmer avec des études à plus long terme.

Il apparaît au vu des données moyennes de chaque pathosystème [isolat-Catuai] que les différences de pouvoir pathogène observées entre les trois isolats étudiés sur ce cultivar sont une conséquence directe des différences de capacité parasitaire dans les racines de cet hôte (figure 3.36). En conséquence, ces isolats présenteraient à densité de population égale la même capacité à produire des dégâts. C'est ce qu'ont également observé différents auteurs pour des isolats de *R. similis* de différentes origines géographiques sur bananiers (Pinochet, 1979 ; Tarté *et al.*, 1981 ; Sarah *et al.*, 1993 ; Fallas *et al.*, 1995). Les seuls quatre points observés ne permettent pas de valider statistiquement le modèle d'ajustement ici choisi (modèle de Richard). Cependant chacun des points représentés correspond à la moyenne de toutes les répétitions

réalisées pour chacun des isolats et de ce fait ont un certain poids. De plus pour chacun de ces points, c'est la moyenne des observations des deux premières dates d'observation (dates auxquelles il n'y a pas encore de régression des populations) qui est utilisée, permettant ainsi une meilleure appréhension de la capacité parasitaire. Fallas (1995) mentionne également dans son étude comparative du pouvoir pathogène de différents isolats géographiques de *R. similis* sur bananiers, la prise en compte de plusieurs dates d'observation des populations de nématodes qui permet une meilleure description de la relation entre la densité de nématodes par de racines et les poids frais de racines et de la partie aérienne.

L'analyse comparée des données individuelles des plants infestés par les différents isolats et sur les plants de *C. canephora* et de *C. arabica* rendue possible par l'utilisation des Pfr (figure 3.37) met en évidence au niveau des racines une seule et même relation pour les deux matériels génétiques entre perte de Pfr radiculaire et la densité de population dans les racines. Ces résultats sont en accord avec les observations faites précédemment sur la dynamique de pertes de Pfr radiculaire. Ces observations vont dans le même sens de l'absence de seuil de tolérance des racines aux attaques de *Pratylenchus*. Cela peut s'expliquer par la nature des dégâts directs de ces endoparasites migrateurs sous forme de lésions en opposition à ce qui peut être observé chez les endoparasites sédentaires tel que *Meloidogyne* spp. dont la première symptomatologie consiste seulement en la formation de sites nutritionnels. La nature sigmoïdale de la relation est visualisée par le modèle général de Richard. Des observations avec tous les isolats, chacun inoculé sur différents matériels génétiques, permettraient de vérifier cette hypothèse et de valider le modèle mathématique. Il apparaît dans cette relation une importante variabilité des densités de populations de *Pratylenchus* par g de racines sur les divers plants de *C. canephora*. Cela peut s'expliquer par la variabilité génétique dans cette descendance libre du fait de la nature allogame de ce matériel comme cela a déjà été observé par d'autres auteurs (Anzueto, 1993 ; Leroy, 1993 ; Charrier & Eskes, 1997). Ces résultats montrent d'un point de vue méthodologique qu'il serait préférable pour *C. canephora* et tous les *Coffea* spp. diploïdes en général, de travailler avec du germoplasme multiplié végétativement *in vitro*. D'un point de vue agronomique, ces résultats montrent également l'intérêt de sélectionner chez *C. canephora* différentes lignées résistantes afin de pouvoir obtenir des hybrides connus par pollinisation contrôlée tel que dans le cas de la variété Nemaya, sans quoi une variabilité importante de la résistance pourrait être observée au champ.

Le modèle de croissance à point critique de Seinhorst (Seinhorst, 1995) n'est présenté qu'à titre illustratif. Ce modèle est appliqué ici aux densités de nématodes dans les racines à la même date d'observation que celle des variables végétatives et non pas aux densités initiales de populations de nématodes dans le sol (Seinhorst, 1995). En accord avec les observations sur la dynamique de perte de Pfr au niveau de la partie aérienne, il permet de visualiser l'apparente existence d'un seuil de tolérance de la plante aux attaques de *Pratylenchus* dans les racines. Un plus grand nombre d'observations permettrait de vérifier l'ajustement de ce modèle mathématique aux données présentées et de comparer les paramètres (m et T) de celui-ci, entre différents matériels génétiques. Un tel modèle, s'il se révélait adapté, permettrait de comparer en conditions contrôlées l'influence de différents facteurs environnementaux (fertilité du sol, ombrage, température, hygrométrie, humidité du sol, etc) sur les facteurs de résistance partielle aux populations de *Pratylenchus* spp. Comme cela a été discuté antérieurement, le déterminisme polygénique de ces facteurs de résistance partielle entraîne en effet une influence importante du milieu sur ces derniers.



## **2.4. Conclusions et perspectives**

*Composantes et variabilité de la capacité à causer des dégâts sur Coffea spp. :*

Il apparaît pour les trois isolats de *Pratylenchus* sur *C. arabica*, une relation positive de leurs effectifs de populations observés 100 jours après inoculation résultant de la capacité parasitaire, avec d'une part leur dynamique de pénétration observée durant les premières 96 heures après inoculation et, d'autre part, le taux  $[j+w]/♀$  en tant qu'indicateur de la fertilité des femelles sur l'hôte considérée et en conséquence de sa capacité reproductive. Les données de l'étude ne permettent cependant pas de déterminer la part relative de ces deux composantes, capacité d'infestation et capacité reproductive, dans la définition de la capacité parasitaire d'un isolat sur un hôte donné. La vitesse de développement de chacun des isolats est un paramètre qu'il faudra également évaluer sur les hôtes considérés. La capacité d'infestation, devra pour sa part être étudiée en détail en considérant les différentes étapes amenant à l'infection de l'hôte : capacité à reconnaître et localiser l'hôte puis capacité à pénétrer dans les racines.

L'isolat Chitalon dont la capacité reproductive sur rondelles de carottes *in vitro* s'est révélé être élevée montre également une capacité reproductive élevée (croissance rapide des populations et fort taux  $[j+w]/♀$ ) ainsi qu'une dynamique de pénétration très rapide dans les racines avec un taux de pénétration élevé. Il en résulte une forte capacité parasitaire de cet isolat sur Catuai et par conséquent une forte capacité à produire des dégâts sur ce cultivar.

Dans le cas de l'isolat Chamtaca, sa faible capacité parasitaire sur Catuai est liée à la fois à une dynamique de pénétration très lente et à une faible capacité reproductive : croissance lente des populations et faible taux  $[j+w]/♀$ . Cette faible capacité reproductive sur Catuai est de plus très inférieure à celle observée pour l'isolat Chitalon. En revanche, l'isolat Chamtaca montre une capacité reproductive élevée et similaire à celle de l'isolat Chitalon sur rondelles de carottes *in vitro*. Le facteur température peut difficilement être invoqué pour expliquer ces différences de comportement car les conditions de température de l'étude en pots sur la capacité à causer des dégâts sont similaires à la gamme de températures testée pour l'étude de la capacité reproductive sur rondelles de carottes *in vitro*. Ces résultats amènent à s'interroger sur l'origine de cet isolat. Cet isolat semble peu adapté au parasitisme de *C. arabica*. Il serait intéressant de tester sa capacité parasitaire sur d'autres plantes souvent associées à la culture des caféiers ou très

fréquentes dans la région où il a été prélevé comme en particulier les bananiers plantain (*Musa* spp.) et *Elettaria cardamomum*. Un isolat de *P. coffeae* prélevé en Inde sur *Elettaria cardamomum* avait infesté les racines de plants de *C. arabica* mais ne s'y multipliait que peu ou pas du tout (Kumar & Viswanathan, 1972). Des résultats similaires ont été observés avec des isolats de *P. coffeae* prélevés sur bananiers et inoculés sur *C. arabica* (Pinochet & Sarah, non publié).

Pour l'isolat Moca, on observe le cas inverse puisqu'il montre une très faible capacité reproductive sur rondelle de carottes *in vitro*, très inférieure à celles observées pour les isolats Chamtaca et Chitalon. En revanche, cet isolat Moca montre une capacité reproductive sur Catuai intermédiaire entre celles des deux autres isolats au vu du taux  $[J+W]/♀$ . Du fait d'une dynamique de pénétration également intermédiaire, il en résulte une capacité parasitaire intermédiaire sur Catuai.

L'ensemble de ces résultats montre des différences biologiques importantes entre ces trois isolats révélées par leur aptitude à infester et/ou à se développer en élevage monoxénique et sur *C. arabica*.

*Conséquences sur le choix des marqueurs biologiques pour caractériser les populations Pratylenchus spp. :*

Au vu des différences de capacité reproductive observées pour les isolats Chamtaca et Moca sur rondelles de carottes *in vitro* et sur *C. arabica*, il apparaît nécessaire de réaliser des études comparées de capacité reproductive de ces isolats non plus seulement sur rondelles de carottes mais aussi sur du matériel végétal de *Coffea* spp. Ces observations sont appuyées par les observations de Dickerson (1979) et Mizukubo & Adachi (1997) montrant que l'effet de la température sur la capacité reproductive chez le genre *Pratylenchus* ne dépend pas seulement du nématode étudié mais plutôt de l'interaction nématode-hôte. On peut envisager des test *in vitro* sur jeunes vitroplants, sur racines excisées ou bien sur racines transformées de *Coffea* sp. par *Agrobacterium rhizogenes*, technique déjà mise au point (Spiral *et al.*, 1993 ; Leroy *et al.*, 1998). Mizukubo & Adachi (1997) ont ainsi étudié le développement de *Pratylenchus penetrans* sur racines transformées de *Trifolium repens*. La capacité reproductive doit être appréhendée de façon plus précise en estimant pour chaque pathosystème [isolat de *Pratylenchus* - lignée /cultivar de

*Coffea* sp.] une valeur approchée du taux intrinsèque d'accroissement naturel  $r$  (Wyatt & White, 1997 ; Le Rü & Papierok, 1987). Ce genre d'étude pourrait être envisagée en réalisant des tests précoces permettant à la fois d'évaluer la capacité infestante par l'étude de dynamique de pénétration initiale prolongée par une dynamique de population à court terme avant l'apparition de phénomènes de densité-dépendance. Ces études permettraient la construction de modèles phénologiques pour chaque isolat en fonction de la température et l'évaluation des taux intrinsèques d'accroissement naturels. Des modèles malthusiens et en particulier les équations de Von Foerster pourraient être appliquées dans ce cas puisqu'elles sont bien adaptés aux organismes poïkilothermes dont le cycle biologique est constitué de divers stades physiologiques entrecoupés de mues (Pierre, 1993). Ces paramètres biologiques beaucoup plus précis pourraient ensuite servir de références dans des études comparées en particulier vis-à-vis des mêmes paramètres évalués pour différents topotypes de *Pratylenchus* spp.

Il apparaît également nécessaire de poursuivre des expériences à plus long terme pour étudier l'évolution des populations des isolats les moins agressifs tel que l'isolat Chamtaca sur *C. arabica* ou l'isolat Moca sur *C. canephora*. Une telle étude permettrait de vérifier dans le cas de systèmes [isolat de *Pratylenchus* - lignée /cultivar de *Coffea* sp. hôte] à faible pathogénie si les populations continuent à croître jusqu'à observer une destruction des racines. Il se peut également que la croissance des populations de nématodes soit suffisamment lente pour que les densités de nématodes par unité de poids de racines restent en équilibre avec la croissance radiculaire des plants. Si cette dernière hypothèse se vérifiait, il ne serait probablement pas justifié de mettre en oeuvre des moyens de lutte contre ces parasites peu agressifs sur *C. arabica* tel que l'isolat Chamtaca. Il ne s'avérerait pas non plus opportun de mettre en oeuvre des moyens de lutte complémentaires pour les cultivars présentant une résistance incomplète comme dans le cas de certaines lignées de *C. canephora*. La recherche de conditions optimales pour l'expression de la résistance serait alors à privilégier.

*Conséquences sur l'élaboration de tests de résistance à Pratylenchus spp. pour le matériel génétique de Coffea spp.*

Ces études devraient permettre ensuite de déterminer des indicateurs précoces, fiables, précis et rapides pour l'élaboration de tests précoces de résistance aux différents biotypes de



*Pratylenchus* pour le matériel génétique de *Coffea* spp. à tester. Cela implique à ce stade de travailler sur du germoplasme très peu variable génétiquement au sein de chaque lignée à tester en utilisant donc les techniques *in vitro* pour une reproduction végétative par micro bouturage ou embryogénèse somatique (Etienne *et al.*, 1999). Les résultats de ces tests précoces devront être corroborés par des études de plus longue durée en serre et au champ. S'agissant pour les caféiers d'une culture pérenne, les études à plus long terme sont d'autant plus nécessaires que les populations pourront évoluer sur des laps de temps très longs.

*Statut d'hôte de C. canephora vs C. arabica vis-à-vis de Pratylenchus spp. :*

La base génétique des différents cultivars de *C. arabica* étant très étroite (Charrier *et al.*, 1998 ; Anthony *et al.*, 1999, Bertrand, 1999), les résultats obtenus dans cette étude avec le cultivar Catuai sont probablement extrapolables à la plupart des cultivars actuels de *C. arabica* à l'exception peut-être de ceux qui ont fait l'objet d'introgession de gènes de *C. canephora* comme les Catimors. Les nouveaux hybrides F1 résultant de croisement avec des lignées semi-sauvages d'Ethiopie (Bertrand *et al.*, 1999) et encore à l'étape de développement pourraient également montrer un statut d'hôte différent vis-à-vis des populations de *Pratylenchus* bien que Anzueto (1993) n'a pu mettre en évidence de résistance à l'isolat Buena Vista de *Pratylenchus* dans une étude exploratoire de quelques lignées éthiopiennes de *C. arabica*.

La faible capacité parasitaire de l'isolat Moca sur la descendance libre de *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2] est en accord avec le très faible taux de pénétration des isolats Moca et Chitalon dans les racines de l'hybride *C. canephora* cv Nemaya (voir § 2.3.1. de ce chapitre, figure 2.8) dont le clone *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2] constitue un des parents. On pouvait même peut-être s'attendre à une capacité parasitaire encore plus faible au vu du taux de pénétration presque nul observé sur le cultivar Nemaya. La capacité parasitaire de l'isolat Moca ayant été observée sur une descendance libre du clone *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2], la pollinisation libre a probablement engendré une variabilité génétique au niveau de cette descendance et peut-être au niveau du déterminisme des facteurs de résistance vis-à-vis de *Pratylenchus* spp. L'évaluation des niveaux de résistance des deux parents *C. canephora* T3751 [1-2] et T3561 [2-1] et de leurs descendance (pollinisations contrôlés) devraient permettre

d'évaluer l'héritabilité de ces facteurs de résistance à *Pratylenchus*. La moindre attractivité des racines des plants de *C. canephora* tout au moins du cultivar Nemaya constitue une caractéristique tout à fait attrayante pour ces plants résistants. Elle permet dans un premier temps de modérer la pression parasitaire au niveaux des tissus de la plante, contribuant ainsi à une meilleure durabilité de la résistance. Elle permettrait également, en présence de facteurs de résistance induits chez ce matériel génétique, de moins solliciter ces mécanismes de défense consommateurs d'énergie (production de phytoalexines) et/ou antagonistes du bon développement de la plante (hypersensibilité avec production de polyphénols) (Rapilly, 1991).

La faible capacité parasitaire de l'isolat Moca sur la descendance libre de *C. canephora* cv. Robusta T3751 [1-2] apparaît corrélée à sa faible capacité reproductive sur cet hôte au vu de la faible croissance des populations et du taux  $[J+W]/♀$  deux fois moindre que celui observé sur Catuai. Ces résultats sont à rapprocher de la présence de phénols détectée dans le cortex des racines du cultivar Nemaya. La nature de ces composés phénoliques et leurs effets sur les différents stades physiologiques (oeufs, larves et adultes ♂ ou ♀) des populations de *Pratylenchus* restent à déterminer.

De même que pour les observation faites sur Catuai, la faible capacité parasitaire de l'isolat Moca sur *C. canephora* semble donc être conditionnée à la fois par une faible capacité d'infestation et une faible capacité reproductive de ce nématode sur cet hôte en relation avec des facteurs de résistance pré et post-infectieux jouant sur les deux composantes de la capacité parasitaire, respectivement.

L'influence de certains facteurs du milieu sur les facteurs de résistance partielle de *C. canephora* aux *Pratylenchus* spp. reste à étudier, comme la fertilité du sol, la quantité de radiation solaire, la température, l'humidité du sol. Gnanapragasam (1982) et Melakeberhan *et al.* (1997) ont montré que des déficits nutritionnels diminuaient les niveaux de résistance partielle de *Camellia sinensis* à *P. loosi* et de porte-greffes *Prunus avium* L. à *P. penetrans* respectivement. En effet, le support polygénique de ces résistances partielles (Nelson, 1978 ; Parlevliet, 1979) que l'on observe vis-à-vis de ces endoparasites migrants augmente la probabilité pour que son expression globale soit dépendante de l'environnement (Rapilly, 1990). Dans le cas de l'étude, les conditions expérimentales n'étaient pas optimales pour le développement des plants, aucune fertilisation n'ayant été réalisée durant l'expérimentation. Malgré cela les plants de *C. canephora*

ont montré un bon niveau de résistance. On peut donc penser que dans des conditions optimales de culture, ce matériel génétique devrait montrer un niveau supérieur de résistance vis-à-vis de ce pathogène. Il faut également rappeler que les études en pots exposent les plants à des pressions parasitaires plus élevées que dans les conditions réelles de culture au champ. Dans les conditions de l'expérimentation, les densités de *Pratylenchus* de l'isolat Moca atteignent près de 3000 nématodes par gramme de racines sur *C. arabica* (et dépassent les 8000 dans le cas de l'isolat Chitalon) alors que les densités maximales de populations observées *in situ* sont de l'ordre 800 par gramme de racines (voir chapitre 3. § 3.1 figure 3.38). Dans le cas de *C. canephora*, les densité de populations de l'isolat Moca observées en pots (150 jours après inoculation) sont de l'ordre de 500 nématodes par gramme de racine. Par comparaison, l'étude de nocuité au champ d'une population naturelle de *Pratylenchus* montre des densités de population de *Pratylenchus* maximales d'environ 30 nématodes par gramme de racines sur porte-greffes de *C. canephora* de plants adultes non sélectionnés 4 ans après plantation (voir chapitre 3. § 3.2. tableau 3.17). On peut donc penser que ces résistance se révèlent plus efficaces au champ qu'elles n'apparaissent dans les expérimentations en pots.

Le niveau de spécificité des différents facteurs de résistance de *C. canephora* reste à déterminer vis-à-vis des différents biotypes et/ou espèces de *Pratylenchus* mais aussi d'autres genres de nématodes, soit ectoparasites (facteurs préinfectieux) dont la capacité à produire des dégâts est souvent mal connue, soit endoparasites tel que *Meloidogyne* spp. montrant une grande diversité d'espèces et biotypes parasitant les caféiers en Amérique Centrale (Hernandez *et al.*, 1996 ; Hernandez, 1997). La presque absence d'infestation des racines de *C. canephora* cv. Nemaya par les isolats Moca et Chitalon appartenant probablement à deux espèces différentes indique une probable nature non spécifique de ces facteurs de résistance pré-infectieux.



### **3. ETUDES SUR LA BIOECOLOGIE DE QUELQUES POPULATIONS NATURELLES DE *PRATYLENCHUS***

#### **3.1 Fluctuations saisonnières de deux populations de *Pratylenchus* sur *C. arabica* à deux altitudes différentes**

##### **3.1.1. Résultats**

##### **3.1.1.1. Description des fluctuations de populations de *Pratylenchus***

###### ***Site de Buena Vista (450 m d'altitude) :***

Les densités de populations de *Pratylenchus* (mâles, femelles et juvéniles) dans les racines de *C. arabica* montrent des fluctuations saisonnières (figure 3.38). Deux périodes de populations maximales sont observées chaque année. Une première intervient durant la saison sèche entre janvier et mars. Les niveaux atteignent une valeur d'environ 250 nématodes par g de racines en 1989 et 1990, et de 350 nématodes par g de racines en 1991 et 1992. Le pic de la saison sèche 1992 est précédé d'un autre en décembre 1991. Une seconde période de pullulation intervient durant la première moitié de la saison des pluies en juin-juillet. Les niveaux maximums de populations observés atteignent une valeur de 350 nématodes par g de racines en 1989, de 275 nématodes par g de racines en 1990 et 1991 et 175 nématodes par g de racines en 1992. Ce second pic intervient juste avant ou au début de la période dite de "canicule" plus chaude et de moindre pluviosité. Au début de la saison des pluies, entre le pic de la saison sèche et celui de juin-juillet, on observe une période intermédiaire avec des populations moyennes de l'ordre de 150 nématodes par g de racines. Durant la seconde moitié de la saison des pluies, entre les mois d'août et octobre, on observe les niveaux de populations les plus bas de l'année : 25 à 75 nématodes par g de racines suivant les années. Cette période coïncide avec la maturité des fruits à cette altitude.

***Site de Moca (1200 m d'altitude) :***

Tout comme sur le site de Buena Vista, les densités de populations de *Pratylenchus* montrent des fluctuations saisonnières avec les deux mêmes périodes maximums de populations par année (figure 3.38). Cependant les fluctuations de populations, évaluées ici tous les quinze jours, semblent un peu plus chaotiques et la saisonnalité est moins évidente à discerner.

On retrouve comme pour le site de Buena Vista une première période de pics de populations correspondant à la saison sèche. Ces pics sont toujours dédoublés comme sur le site de Buena Vista pour l'année 1992. Le premier pic est observé au tout début de la saison sèche, sur les mois de décembre et janvier. Les niveaux maximums observés sont d'environ 600 nématodes par g de racines pour les trois années. Le second pic intervient en février-mars juste avant la reprise des pluies. Les niveaux maximums de populations observés lors de ce second pic sont de 600 nématodes par g de racines en 1994, 800 en 1995 et 550 en 1996. La seconde période de populations maximales intervient durant la première moitié de la saison des pluies. En 1994 et 1995, ce pic est observé en juin-juillet comme sur le site de Buena Vista avec environ 650 nématodes par g de racines. En 1996, il n'apparaît pas de pic marqué. On n'observe que des fluctuations de populations limitées avec des niveaux maximums de populations d'environ 450 nématodes par g de racines. Entre les pics de la saison sèche et celui de juin-juillet, on observe comme dans le cas du site de Buena Vista des niveaux moyens de populations d'environ 200 nématodes par g de racines. Les niveaux minimaux apparaissent en novembre-décembre entre la saison des pluies et le début de la saison sèche. Ces faibles niveaux de populations, d'environ 100 nématodes par g de racines, interviennent plus tardivement que sur le site de Buena Vista mais toujours durant l'époque de maturation des fruits. En effet, cette période est sur le site de Moca, un peu plus tardive et prolongée qu'elle ne l'est sur le site de Buena Vista, du fait d'une altitude plus élevée : 1200 et 450 m, respectivement.

PS

Pic de population durant la saison sèche

PP

Pic de population durant la saison des pluies (juin-juillet)

FP

Faibles niveaux de population en fin de saison des pluies ou début de saison sèche



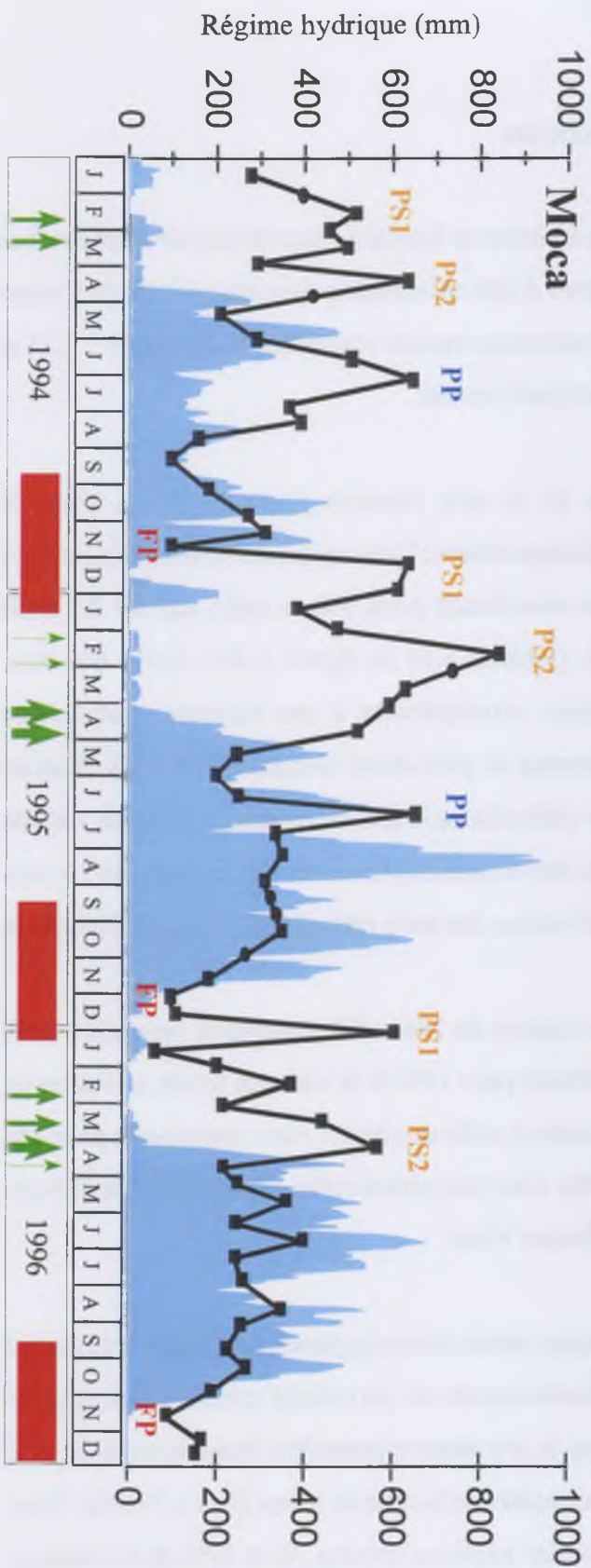
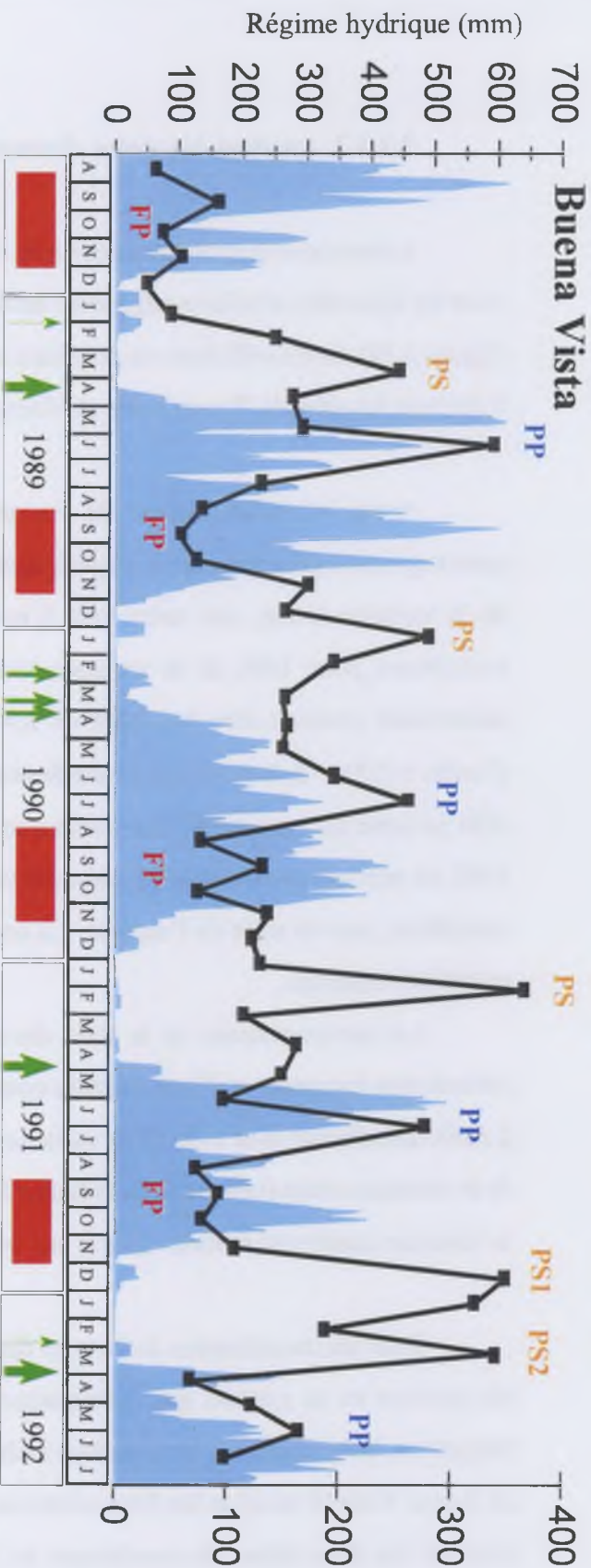
Floraisons : faible, moyenne et très importante, respectivement



Période de maturation des fruits

**Figure 3.38.** Densités de populations de *Pratylenchus* (nématodes par g de racines) sur *C. arabica* sur deux sites à deux altitudes différentes : 450 m (Buena Vista) et 1200 m (Moca) ; dans le sud-ouest du Guatemala. Chaque point est la moyenne de quatre échantillons de racines prélevés chacun sur cinq plants. La barre au dessous de chaque point correspond à la valeur du point (moyenne) moins l'écart type. Le régime hydrique est exprimé par le cumul de précipitations sur les 15 jours précédant chaque date.





### **3.1.1.2. Analyse des séries chronologiques**

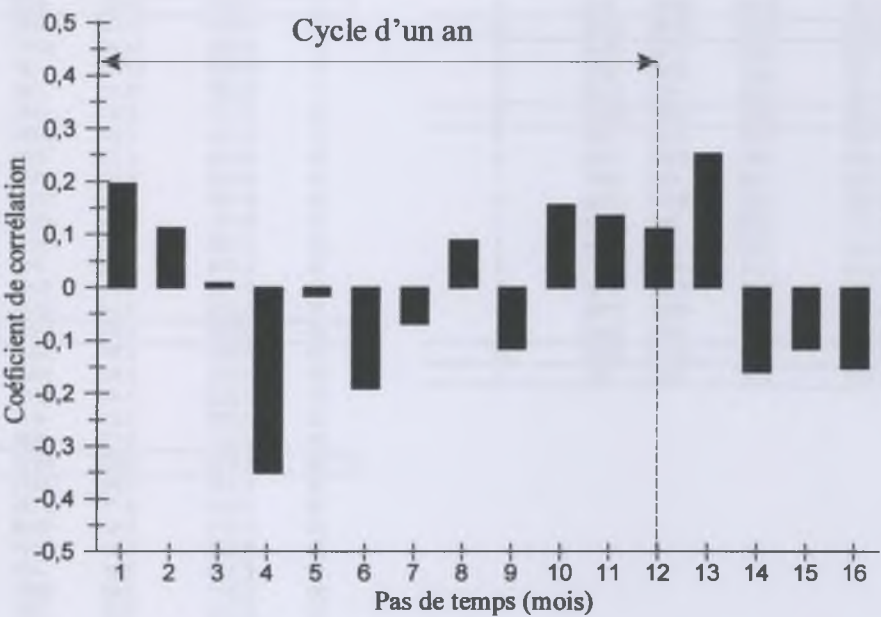
Les autocorrélogrammes des séries de données de densité de populations de *Pratylenchus* pour les deux sites étudiés confirment l'existence d'une saisonnalité avec une périodicité d'un an (figure 3.39). Les coefficients de corrélation maximums restent cependant très faibles  $r = 0,25$  et  $0,28$  pour les sites de Buena Vista et Moca, respectivement.

Après la transformation de Fourier de la série chronologique de Buena Vista, le spectrogramme fait apparaître trois périodicités importantes : l'une annuelle contribuant pour 18% de la variance totale, une autre vers 6 mois contribuant pour 9% et enfin une de 2,5 mois contribuant pour 16% de la variance totale (tableau 3.16 et figure 3.40). Cette troisième saisonnalité pourrait être en réalité de 2,4 mois correspondant à une fréquence harmonique d'ordre 5 ( $2*\pi / 2,4$ ) de la fréquence fondamentale de périodicité annuelle ( $2*\pi / 12$ ). Il est en effet possible qu'une perturbation telle que le dédoublement du pic de saison sèche de l'année 1992 ait entraîné une translation spectrale vers une ordonnée plus forte. Cette valeur de 2,4 sera considérée pour la suite de l'analyse. La combinaison des trois périodicités explique 32% de la variabilité observée.

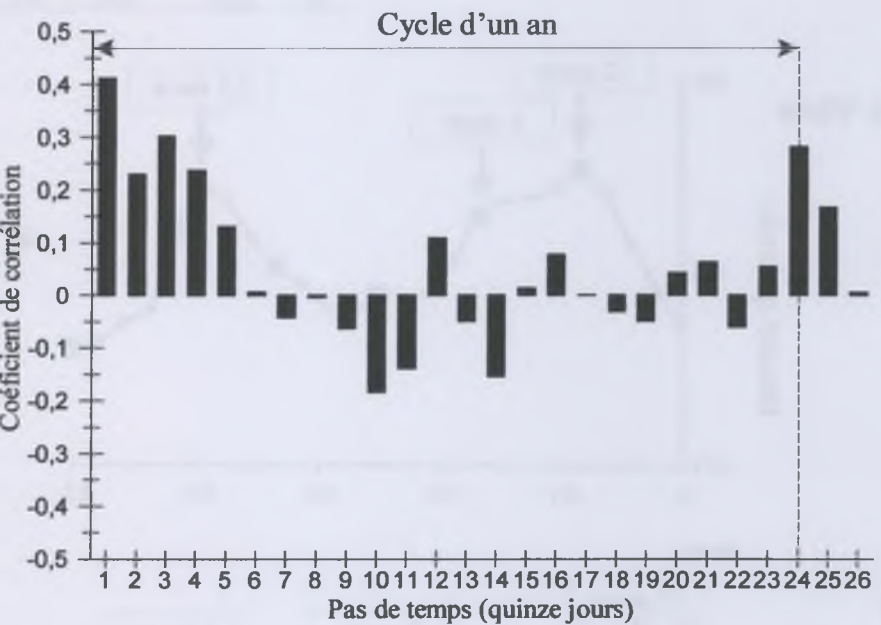
Le spectrogramme de la série chronologique de Moca fait également apparaître trois périodicités importantes : l'une annuelle contribuant pour 14% de la variance totale, une autre de 2 mois contribuant pour 11% de la variance totale et enfin une de 1,5 mois contribuant pour 7% de la variance totale (tableau 3.16 et figure 3.40). Ces trois périodicités expliquent donc 32% de la variance totale tout comme dans le cas de Buena Vista.

Pour les transformées de Fourier des deux séries chronologiques, un filtrage fréquentiel est appliqué en ne gardant que la fréquence fondamentale de périodicité annuelle ainsi que les fréquences harmoniques. Ces dernières incluent la deuxième saisonnalité observée pour la série de Buena Vista (6 mois) et les deux autres saisonnalités de la série de Moca (2 et 1,5 mois). Pour chacune des deux séries, la transformée de Fourier explique environ 36 et 47% de la variance totale. Il apparaît pour la série de Moca d'autres pics de moindre importance, aux fréquences harmoniques de 1/4 mois, 1/3 mois, 1/1,2 mois mais qui permettent d'augmenter le pourcentage

Buena Vista



Moca

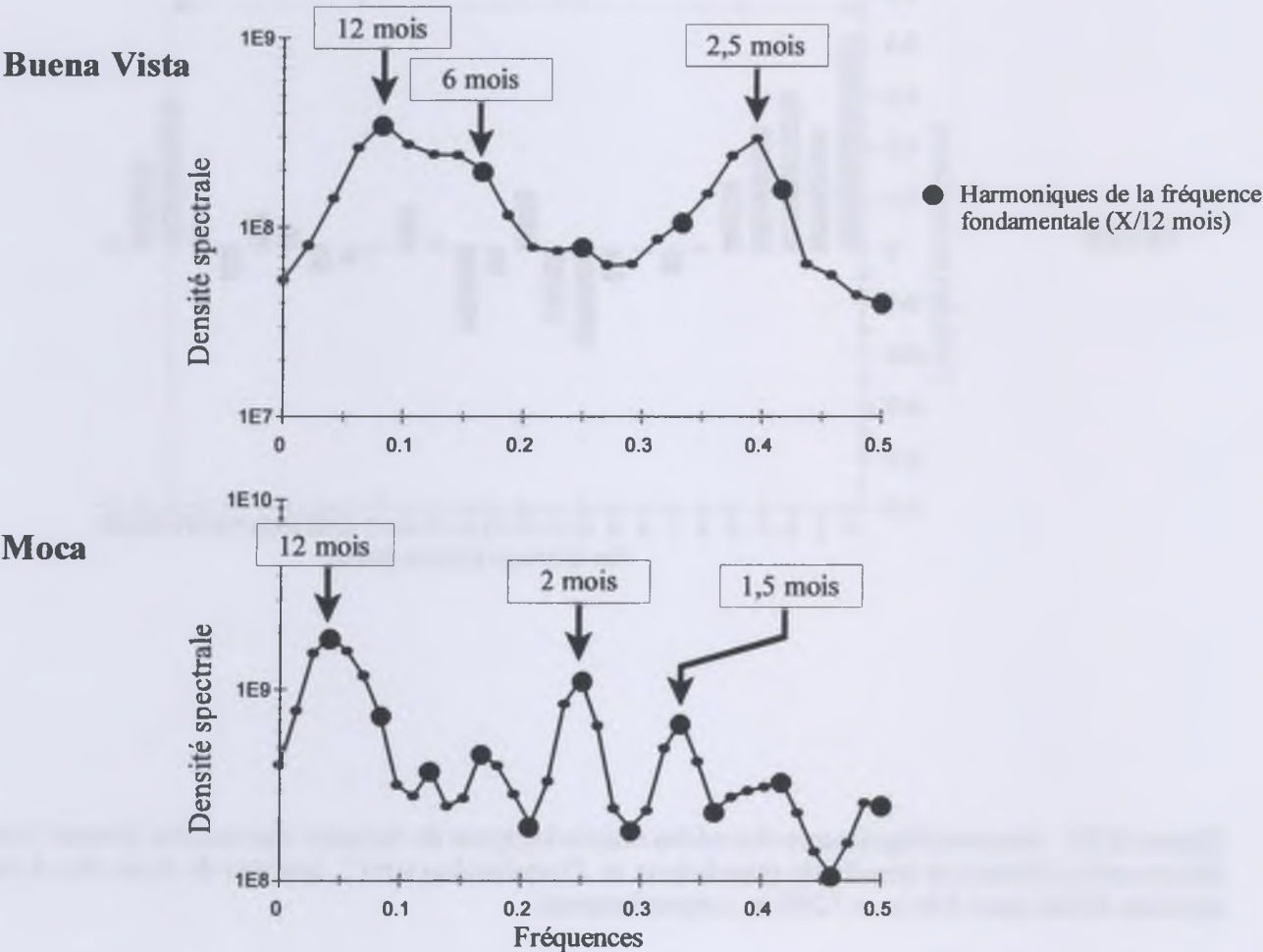


**Figure 3.39.** Autocorrélogrammes des séries chronologiques de données mensuelles (Buena Vista) et bimensuelles (Moca) de densité de populations de *Pratylenchus* sur *C. arabica* de deux sites à deux altitudes différentes: 450 m et 1200 m, respectivement.



**Tableau 3.16.** Résultats de l'analyse spectrale par transformation de Fourier des séries chronologiques de données mensuelles (Buena Vista) et bimensuelles (Moca) de densités de populations de *Pratylenchus* sur *C. arabica* pour les deux sites. \* Densité spectrale dans la fenêtre de Tukey-Hamming.

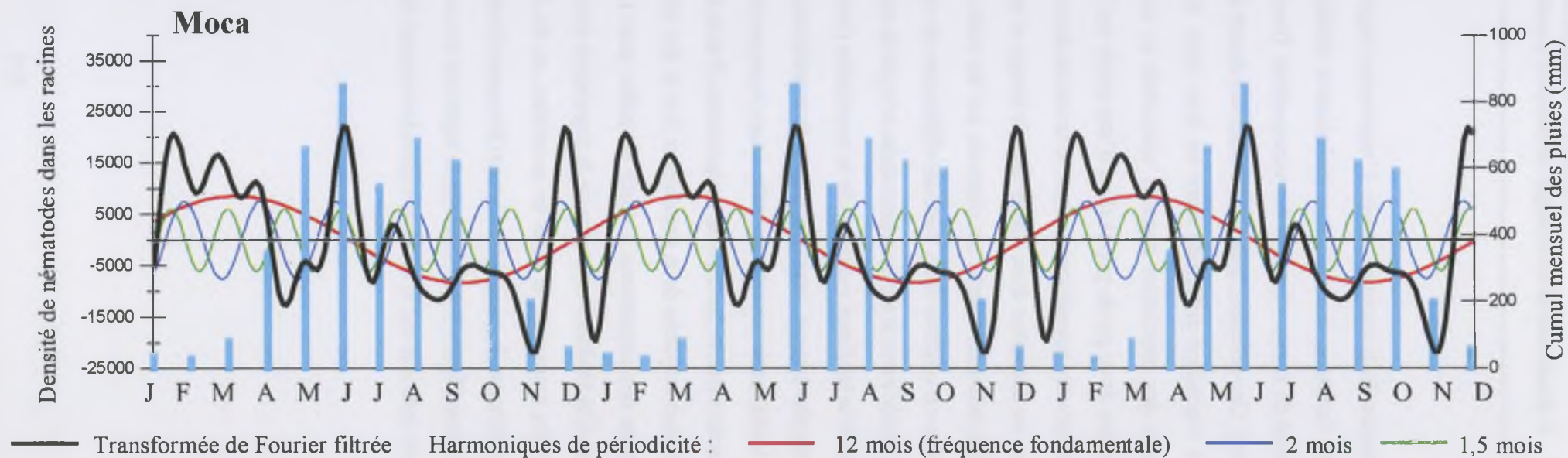
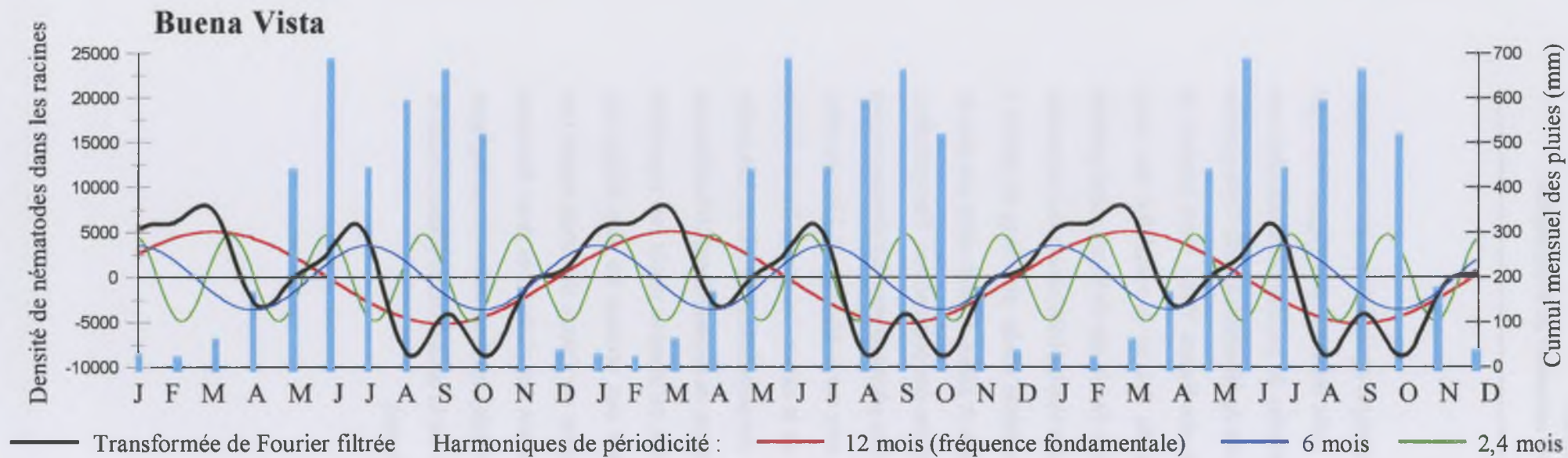
Ordre	Fréquence	Période	Coefficients		% de la variance totale	Ordre	Fréquence	Période	Coefficients		% de la variance totale	Densité spectrale*
			Cosinus	Sinus					Cosinus	Sinus		
0	0.000		-0	0	0	0	0.000		0	0	0	4.04E+08
1	0.021	48.00	-1485	1256	3	1	0.014	72.00	-4011	557	3	7.78E+08
2	0.042	24.00	-1927	-1240	4	2	0.028	36.00	2622	-6281	9	1.55E+09
3	0.063	16.00	-2514	-888	5	3	0.042	24.00	-612	8419	14	1.93E+09
4	0.083	12.00	-4536	-2358	18	4	0.056	18.00	-5972	-67	7	1.60E+09
5	0.104	9.60	1134	1244	2	5	0.069	14.40	2297	-5623	7	1.19E+09
6	0.125	8.00	3201	1867	9	6	0.083	12.00	-46	4763	4	7.42E+08
7	0.146	6.86	472	2765	5	7	0.097	10.29	349	763	0	3.16E+08
8	0.167	6.00	1654	-3156	9	8	0.111	9.00	-946	1732	1	2.78E+08
9	0.188	5.33	-732	-289	0	9	0.125	8.00	-3688	-2614	4	3.79E+08
10	0.208	4.80	-1353	1734	3	10	0.139	7.20	860	-1050	0	2.45E+08
11	0.229	4.36	450	1027	1	11	0.153	6.55	-274	-62	0	2.70E+08
12	0.250	4.00	-1919	-1336	4	12	0.167	6.00	5036	341	5	4.67E+08
13	0.271	3.69	391	-1101	1	13	0.181	5.54	-1839	-1058	1	3.99E+08
14	0.292	3.43	258	-1384	1	14	0.194	5.14	-1693	2996	2	2.84E+08
15	0.313	3.20	-437	2141	3	15	0.208	4.80	915	-1023	0	1.99E+08
16	0.333	3.00	-1107	1258	2	16	0.222	4.50	1957	-605	1	3.32E+08
17	0.354	2.82	-1581	2198	5	17	0.236	4.24	-3445	-2538	4	8.41E+08
18	0.375	2.67	537	2268	4	18	0.250	4.00	5917	-4768	11	1.14E+09
19	0.396	2.53	4179	-2423	16	19	0.264	3.79	1461	1780	1	6.46E+08
20	0.417	2.40	-937	101	1	20	0.278	3.60	1692	367	1	2.39E+08



**Figure 3.40.** Spectrogrammes des transformées de Fourier des séries chronologiques de données mensuelles (Buena Vista) et bimensuelles (Moca) de densités de populations de *Pratylenchus* sur *C. arabica* (fenêtre de Tukey-Hamming).

d'explication de la variance totale. L'expression trigonométrique après filtrage montre, malgré quelques variantes, deux schémas globalement similaires pour les deux sites (figure 3.41) qui permettent de mieux visualiser les saisonnalités. Deux périodes de population maximales sont observées. Une première, longue, est observée durant la sèche de décembre à avril. Cette période apparaît cependant différente entre les deux sites. Sur le site Buena Vista, cette période de croissance des populations apparaît unimodale et longue du fait de la variabilité des dates d'apparition de ce pic de populations d'une année sur l'autre. Sur le site de Moca, cette période de croissance des populations montre en revanche deux modes bien individualisés avec un premier pic court en décembre donc stable dans le temps et un deuxième mode plus long de janvier à avril. Une seconde, courte, est observée sur les mois de juin et juillet. Calées entre ces pics de population on observe deux périodes différentes de régression des populations. Une première, courte, située entre le pic de saison sèche et le pic de saison des pluies montre des niveaux un peu inférieurs à la tendance moyenne de la population (niveau zéro sur le graphique). Une seconde, beaucoup plus longue, intervient durant la seconde moitié de la saison des pluies. Sur le site de Buena Vista, cette période fait suite à une brusque chute des populations du pic de juin-juillet pour ensuite montrer durant trois mois environ, d'août à octobre, de faibles effectifs très inférieurs à la tendance moyenne de la population. Sur le site de Moca, on observe plutôt une régression progressive des populations à partir de juillet pour tomber aux niveaux les plus faibles très inférieurs à la tendance moyenne de la population tout comme sur l'autre site, mais durant une période très courte sur le mois de novembre, en fin de saison des pluies. Les deux fonctions trigonométriques de périodicité d'un an (fréquence fondamentale) des deux séries chronologiques sont en phase (figure 3.41). Leur mode supérieur est centré sur le mois de mars (saison sèche) et leur mode inférieur sur le mois de septembre (saison des pluies).





**Figure 3.41.** Transformées de Fourier filtrées pour les harmoniques de la fréquence fondamentale (12 mois) de séries chronologiques de densités de populations de *Pratylenchus* sur *C. arabica* sur deux sites à des altitudes différentes : 450 m (Buena Vista) et 1200 m (Moca). Les saisonnalités sont visualisées par les harmoniques de fréquence importante dans le spectre.



#### **3.1.1.3. Structure des populations de *Pratylenchus* :**

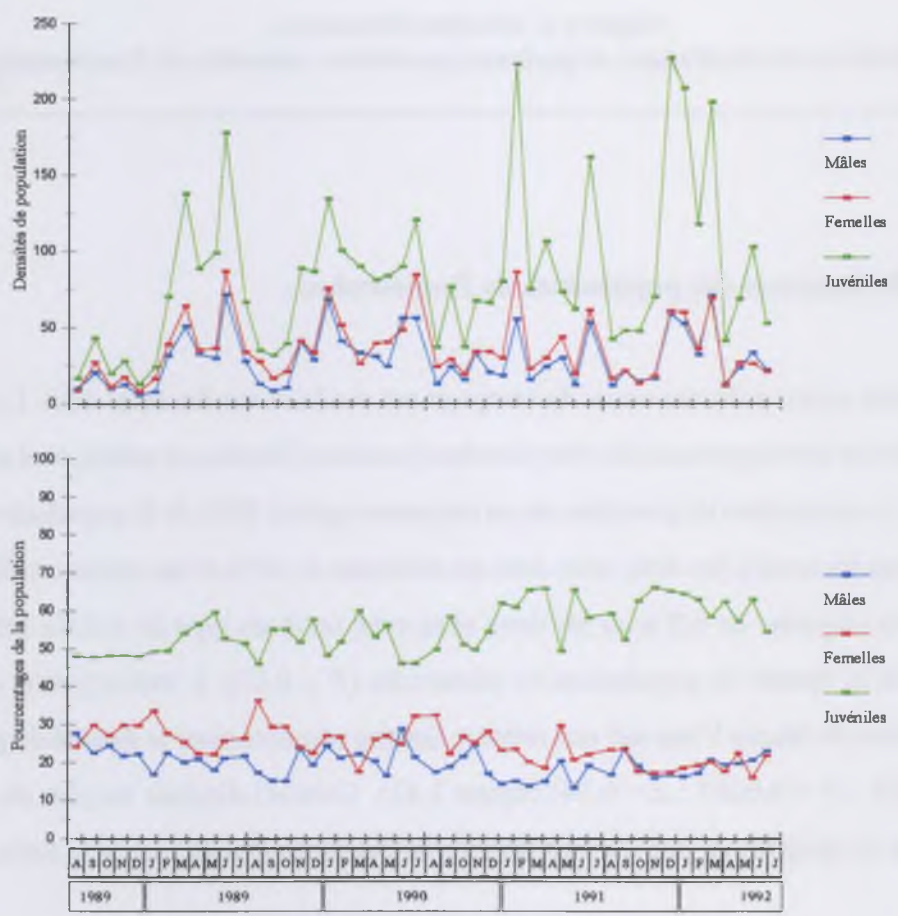
Elle reste assez stable au cours du temps et est similaire sur les deux sites. Les pics des différents stades de développement de *Pratylenchus*, juvéniles, femelles et mâles, sont synchrones (figure 3.42). La proportion de juvéniles est en moyenne égale à 50% de la population totale de nématodes (sans les oeufs) des deux sites avec un minimum de 45% et un maximum de 70%. Le sex ratio est en moyenne de 0,8 pour les deux sites avec un écart type de 0,2. Ce sex-ratio est indépendant de la densité de populations de nématodes ( $P \leq 0,05$ ). L'indice [oeufs / femelles] observé sur le site de Buena Vista suit une relation linéaire négative avec la densité de population totale ( $r^2 = 0,25$  ;  $P = 0,0003$  ;  $d = 0,94$ ) (figure 3.43). Celui-ci diminue de plus de moitié en moyenne entre les densités de populations les plus faibles et les densités les plus fortes.

#### **3.1.1.4. Analyse des fluctuations :**

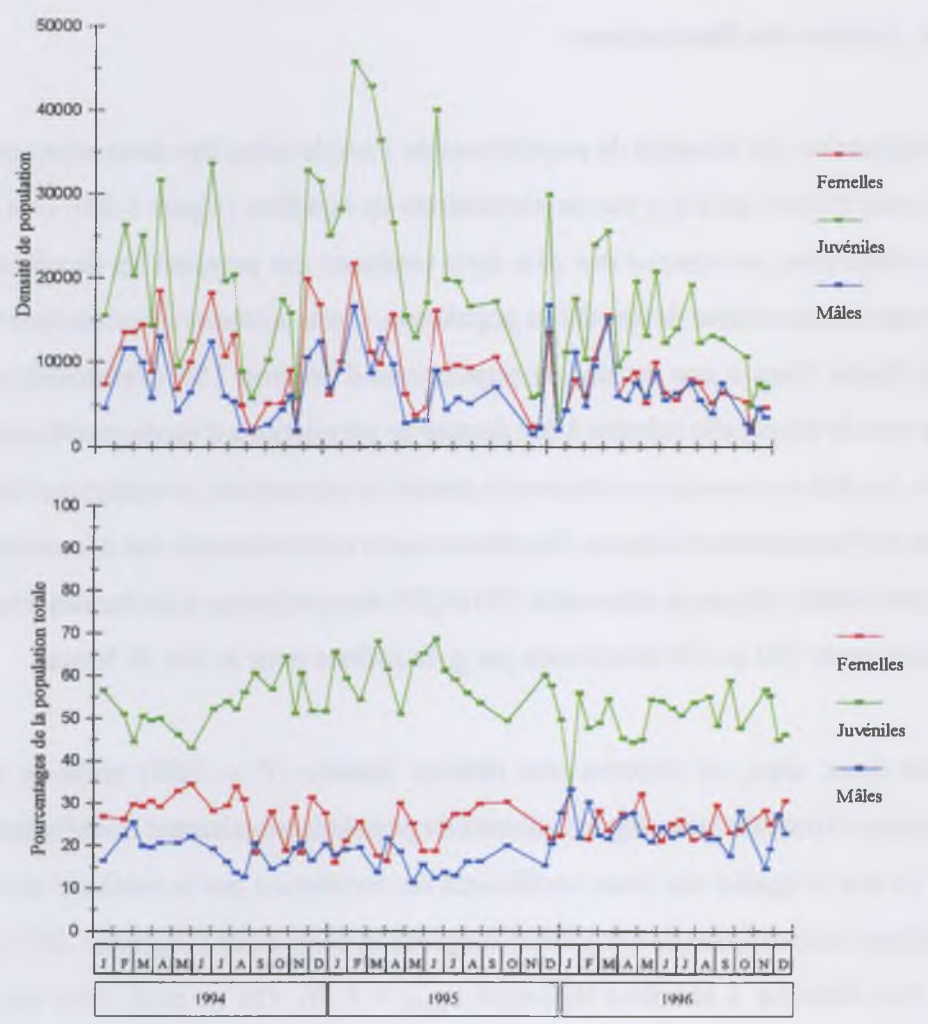
L'autorégression des données de populations de *Pratylenchus* des deux sites sur un pas de temps d'un mois montre qu'il n'y pas de populations en équilibre (figure 3.44). Dès les plus basses densités observées, on observe une plus forte tendance des populations de nématodes à croître jusqu'à une certaine valeur de densité de population. Cette tendance de croissance culmine pour le site de Buena Vista à une densité de populations d'environ 150 nématodes par g de racines. Pour le site de Moca, elle culmine à des densité de populations d'environ 400 nématodes par g de racines. Au delà de ces valeurs critiques de densité de population, la tendance d'évolution des populations de *Pratylenchus* s'inverse. On observe alors exclusivement une décroissance des populations. Cette valeur critique se situe entre 200 et 250 nématodes par g de racines pour le site de Buena Vista et entre 500 et 550 nématodes par g de racines pour le site de Moca.

Pour les deux sites, on observe une relation linéaire ( $P \leq 0,05$ ) entre le taux de multiplication mensuel transformé en log et la densité de population également transformée en log (figure 3.45). Le test d'égalité des deux coefficients de corrélation par la méthode de l'erreur standard en utilisant la transformation argument tangente hyperbolique (Dagnelie, 1975) donne un  $u_{obs} = 0,12$  très inférieur à la valeur théorique  $u_{0,975} = 1,96$ . On ne peut donc pas rejeter

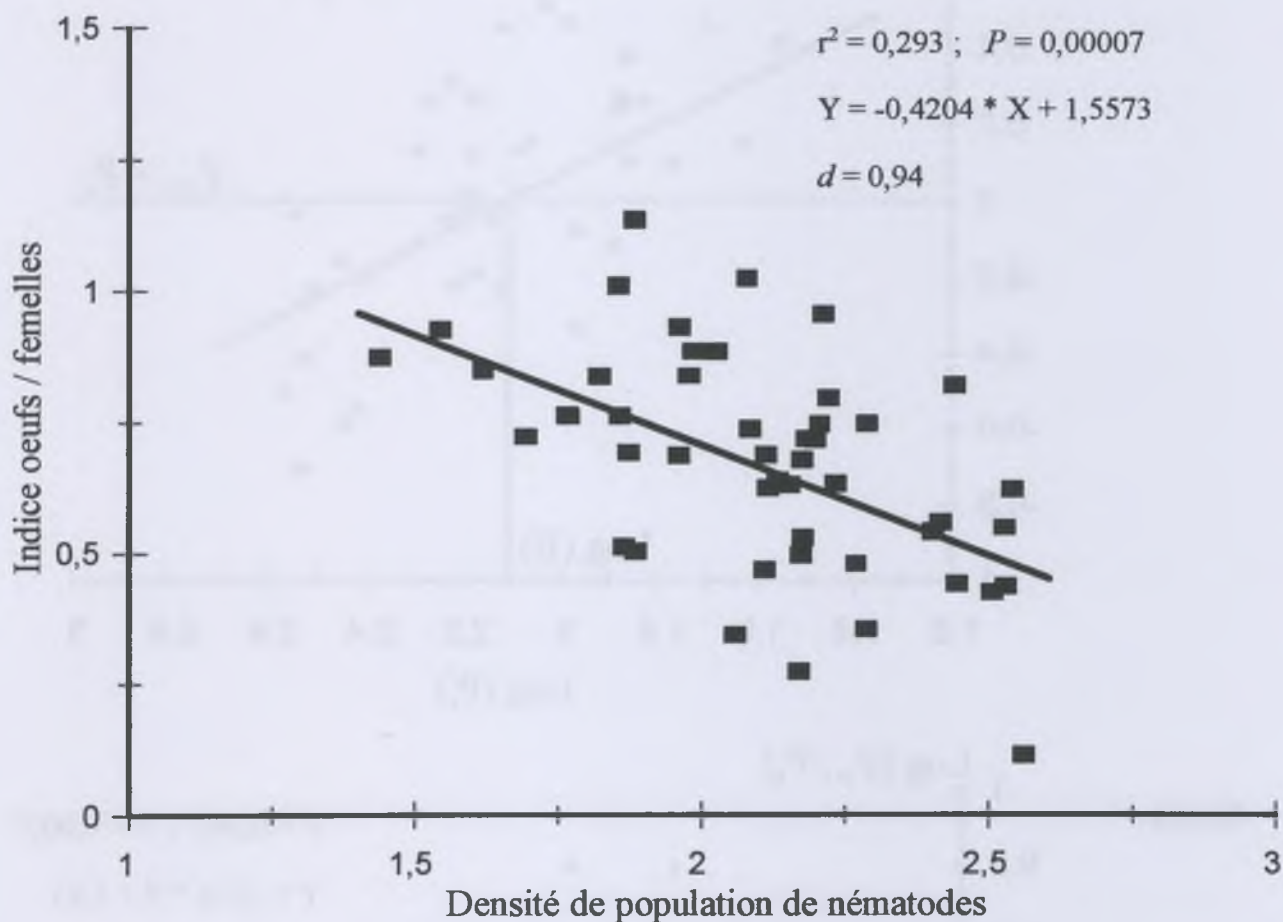
Buena Vista



Moca



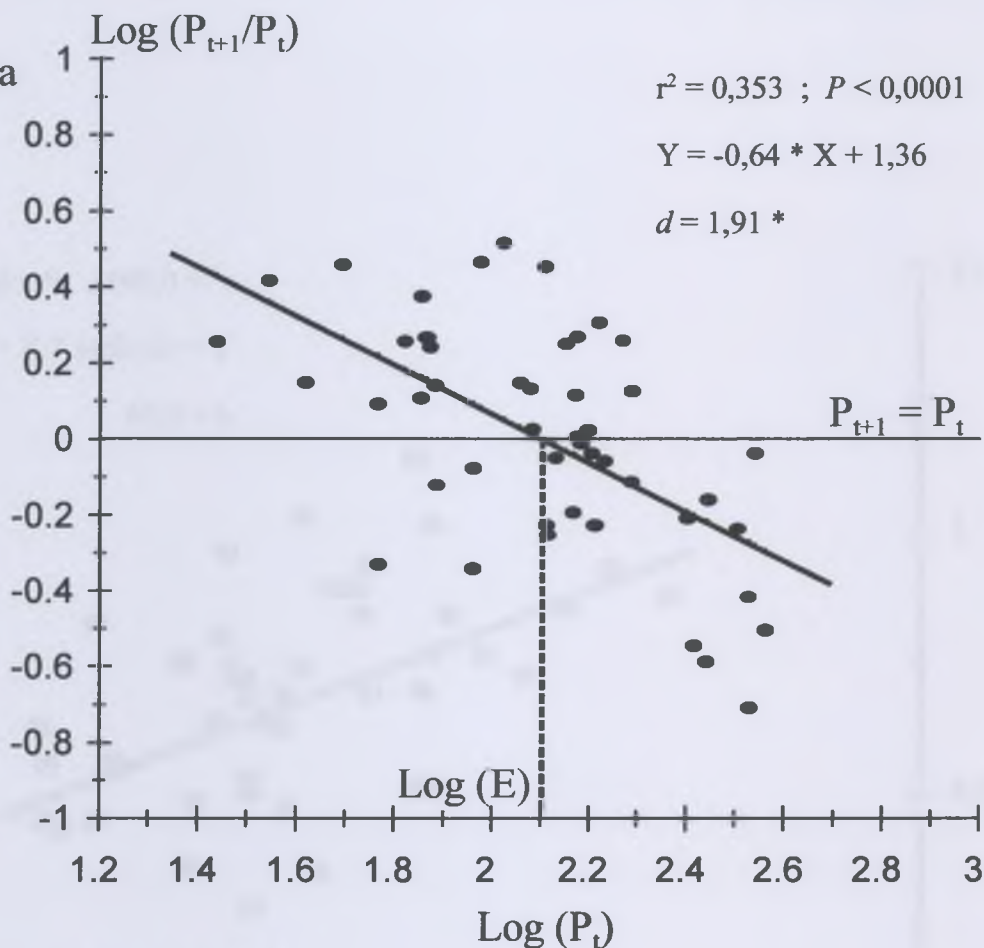
**Figure 3.42.** Densités de populations (nématodes par g de racines) et proportions (% de la population totale) de juvéniles, femelles et mâles de *Pratylenchus* sur *C. arabica* sur les deux sites d'altitude différentes à 450 m (Buena Vista) et 1200 m (Moca).



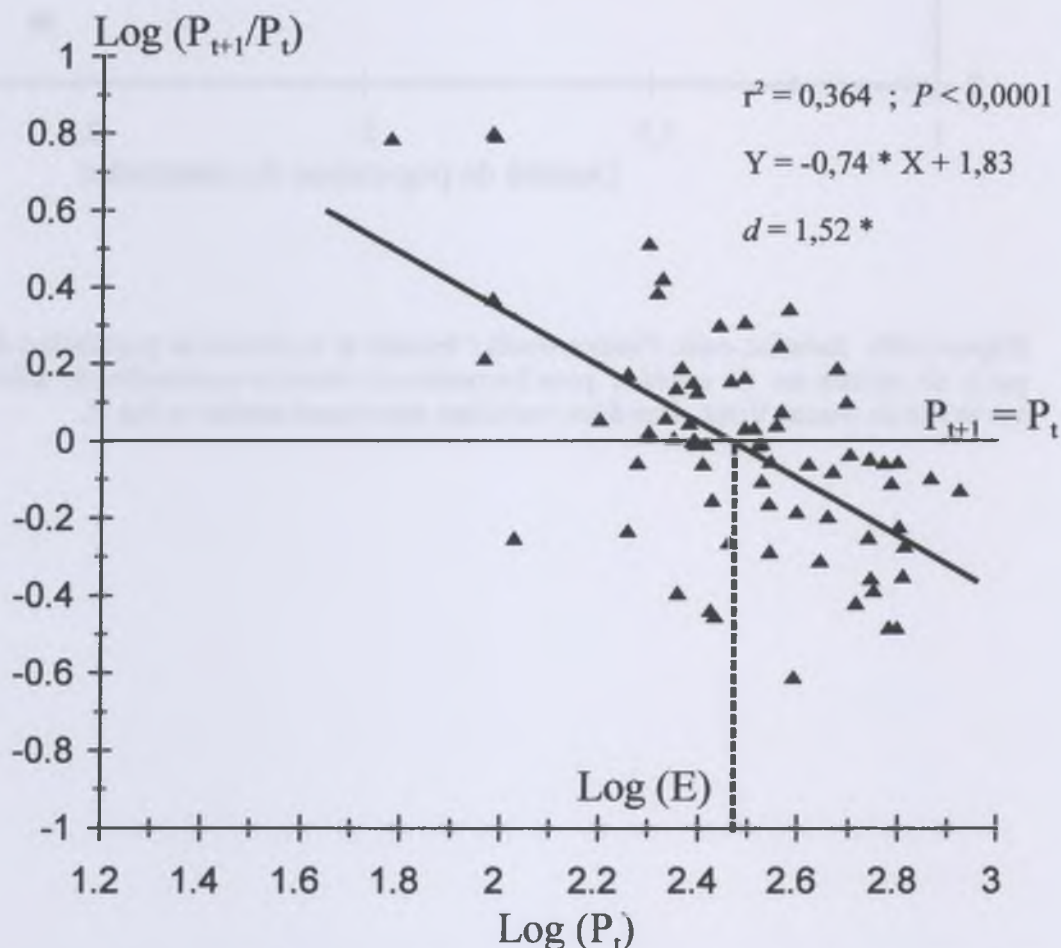
**Figure 3.43.** Relation entre l'indice oeufs / femelle et la densité de population de *Pratylenchus* par g de racines sur *C. arabica* pour les trente-six données mensuelles de suivi de populations sur le site de Buena Vista. Les deux variables sont transformées en log X.



Buena Vista



Moca



**Figure 3.45.** Relation entre le taux de multiplication mensuel et les densités de populations de *Pratylenchus* par g de racines de *C. arabica* sur deux sites à des altitudes différentes : 450 m (Buena Vista) et 1200 m (Moca). Les deux variables sont transformées en log(X). E = Densité de population en équilibre ( $P_{t+1} = P_t$ ). \* test de Durbin-Watson ( $d$ ) sur l'autocorrélation des résidus.

l'hypothèse d'égalité ( $P \leq 0,05$ ) des deux coefficients de corrélation obtenus pour les deux populations de Buena Vista et Moca. La pente  $b$  de la relation linéaire de densité-dépendance du taux de multiplication mensuel est pour le site de Buena Vista égale à -0,64 et pour le site de Moca, égale à -0,74. Les faibles valeurs des coefficients de régression (0,36 et 0,35 respectivement) ne permettent pas de réaliser un test fiable pour vérifier l'égalité des pentes des deux droites de régression.

La densité-dépendance linéaire du taux de multiplication mensuel des populations de *Pratylenchus* observée sur les deux sites peut s'écrire en considérant un pas de temps  $t$  (mois) :

$$\log (P_{t+1} / P_t) = \log c - b * \log (P_t)$$

Ce qui est une transformation logarithmique de la relation de densité-dépendance décrite par Ferris (1985) et Duncan & McSorley (1987) :

$$P_{t+1} / P_t = c * P_t^{-b} \text{ ou bien } P_{t+1} = c * P_t^{1-b}$$

On déduit de ce modèle la valeur  $E$  de densité de population pour laquelle on observe une population globalement en équilibre, c'est à dire lorsqu'en moyenne  $P_{t+1} = P_t$  ; soit  $\log (P_{t+1} / P_t) = 0$ . On a donc :  $E = c^{1/b}$  ou  $\log(E) = \log c / b$ .

D'après les droites de régression calculées pour les deux sites on a :

- Pour Buena Vista,  $\log (E) = 1,36 / 0,64$  soit  $E \approx 135$  nématodes par g de racines
- Pour Moca,  $\log (E) = 1,83 / 0,74$  soit  $E \approx 300$  nématodes par g de racines

Les taux de multiplication mensuels maximum observés pour les deux sites de Buena Vista et Moca sont de 3,3 et 6,3 ; respectivement.

### 3.1.2. Discussion

Sur les deux sites, on observe des fluctuations importantes des populations de *Pratylenchus* avec des pullulations brèves et des chutes de populations très brusques (figure 3.38). Les populations ne sont jamais très longtemps en équilibre. De telles fluctuations brusques ont été observées chez une population de *P. coffeae* sur *Citrus* en Floride (O'Bannon *et al.*, 1972). *P. coffeae* a également montré sa capacité à se multiplier très rapidement sur *Citrus* en pots, en provoquant des détériorations importantes de racines qui entraînent à leur tour des chutes rapides des niveaux de populations de ce nématode (Radewald & O'Banon, 1971a et b). Comparativement *P. coffeae* est connu pour présenter sur *Citrus* des taux de multiplication plus élevés que d'autres espèces comme *P. brachyurus* ou *Radopholus similis* (O'Bannon *et al.*, 1972 et 1976). Norton (1978) fait remarquer que ce genre de fluctuations rapides de populations est commun chez les nématodes dont la reproduction est pourtant lente par rapport à bien d'autres microorganismes. De ce fait, il considère que la période de croissance des pics de populations doit impliquer l'éclosion soudaine d'un certain nombre d'oeufs. Quant à la partie décroissante des pics qui est tout aussi brusque, selon ce même auteur, elle ne peut pas être seulement due à une diminution de la fécondité ou de la fertilité. Des facteurs adverses entraînant une mortalité et/ou une émigration massives des nématodes dans les racines doivent probablement intervenir. La nature des fluctuations de populations observées dans cette étude sont en accord avec les concepts liés à la stratégie "r", mentionnés par Barbault (1987) et Dajoz (1996), à savoir des taux de multiplication élevés, des mortalités de type "catastrophe", dans un milieu où les conditions varient brusquement. Norton (1978) généralise cette stratégie de type *r* au genre *Pratylenchus* puisque les différentes espèces qui le composent, présentent un cycle biologique relativement court d'environ 30 jours à 45 jours et sont capables de pullulations très rapides dans les diverses cultures. En revanche, ces mêmes auteurs rappellent que les niveaux de populations de *Pratylenchus* observés dans les milieux naturels de prairies ou de forêts sont toujours faibles. Sur les deux sites étudiés, les deux populations de *Pratylenchus* constituent l'unique espèce endoparasite dominante sur caféiers. Les résultats de l'étude montrent donc que dans ces conditions, ces deux populations présentent une capacité élevée à coloniser une plantation de *C. arabica*. De ce fait, on peut craindre l'explosion de telles populations suite à l'élimination



d'autres espèces habituellement en compétition telles que *Meloidogyne exigua* (Bertrand *et al.*, 1998). On peut supposer que l'utilisation de cultivars résistants aux *Meloidogyne* spp. (Voir chapitre 1, § 1.6.2) et qui ne le seraient pas vis-à-vis de biotypes présents de *Pratylenchus* pourrait entraîner une colonisation rapide du milieu par ces derniers. C'est ce qui pourrait également être observé suite à des applications de nématicides dont l'efficacité est souvent limitée comme nous le verrons ultérieurement pour *Pratylenchus* (voir § 3.2 de ce chapitre) et qui laisse donc toujours un inoculum résiduel plus ou moins important. C'est ce qui a été montré dans le cas de *Pratylenchus nanus*, lequel développe également une stratégie "r" avec des fluctuations saisonnières rapides et de forte amplitude (Boag & Alpey, 1988). Des pullulations importantes de *P. nanus* ont en effet été observées par ces auteurs dans des parcelles traitées de *Lolium perenne* / *Trifolium repens* en mélange, suite à la quasi disparition de *Rotylenchulus robustus*, espèce occupant la même niche écologique mais de stratégie "K" et se présentant habituellement comme espèce dominante dans les parcelles non traitées au contraire de *P. nanus*.

Les fluctuations des populations de *Pratylenchus* présentent sur les deux sites des composantes saisonnières perceptibles sur les courbes brutes de populations (figure 3.38) et visualisés par les autocorrélogrammes (figure 3.39), les spectrogrammes (figure 3.40) et la transformée filtrée de Fourier (figure 3.41). Les deux séries chronologiques de densités de populations de *Pratylenchus* dans les racines de *C. arabica* présentent chacune une saisonnalité de périodicité annuelle en phase l'une avec l'autre indiquant une tendance générale de niveaux de populations plus élevés en saison sèche et au début de la saison des pluies et de niveaux de populations plus faibles durant la seconde moitié de la saison des pluies (figure 3.41). La fonction d'autocorrélation montre néanmoins des coefficients de corrélations faibles pour les deux sites. La répartition agrégative des nématodes contribue fortement à compliquer l'estimation des populations (Sarah & Perrier, 1988 ; Sarah, 1991 ; Cilas *et al.*, 1992) même avec des stratégies d'échantillonnage adaptées. De ce fait, la variabilité résiduelle liée à cette imprécision est toujours très forte. Le coefficient de variation moyen des données de densité de populations est de 58%. Dans ces conditions, seul un suivi de longue durée, en tout état de cause supérieur aux trois et quatre ans de suivi de ces études, permettrait de valider le modèle de fluctuations saisonnières.

D'autres facteurs non observés dans cette étude contribuent probablement à la nature chaotique des fluctuations de populations de *Pratylenchus* tels que les populations d'autres nématodes phytoparasites ou bien des pathogènes secondaires en compétition avec *Pratylenchus*. La composante saisonnière apparaît moins clairement sur le site de Moca malgré les observations bimensuelles (alors qu'elles sont mensuelles sur le site de Buena Vista) qui ne permettent pas d'améliorer l'aspect chaotique de ces fluctuations de populations.

L'analyse fréquentielle fait apparaître sur les spectrogrammes des deux séries chronologiques, d'autres saisonnalités de périodicité plus courte. Pour le site de Buena Vista, la seconde saisonnalité importante de 6 mois correspond à la fréquence d'apparition des deux pics de populations de chaque année. La saisonnalité de 2,4 mois est vraisemblablement liée au dédoublement du pic de populations de la saison sèche de l'année 1992 et du rapprochement des deux pics de l'année 1989 du fait d'un retard dans l'apparition du pic de la saison sèche par rapport aux autres années. L'absence de pics sur d'autres harmoniques indiquent que ces saisonnalités sont bien définies dans cette série chronologique. Pour le site de Moca, les deux autres saisonnalités importantes de 2 et 1,5 mois correspondent à deux fréquences différentes d'apparition des pics. L'apparition de nombreux pics aux fréquences harmoniques et avec des valeurs spectrales relativement élevées traduit la difficulté à reconstruire la cyclicité de la chronique du fait de fluctuations importantes dans cette cyclicité et du fait du faible nombre d'observations (Bourbonnais et Terraza, 1998). Il est d'ailleurs généralement recommandé de disposer d'un nombre d'observations au moins égal à 6 fois la périodicité observée (David & Michaud, 1989) alors que les deux séries ne comptent que trois et quatre cycles annuels. Il convient donc d'être prudent quant à l'interprétation des résultats de l'analyse fréquentielle de ces deux séries, d'autant plus que de nombreuses perturbation apparaissent dans ces séries chronologiques du fait de fréquents décalages climatiques d'une année sur l'autre. Il n'a d'ailleurs pas été procédé dans ce cas à une désaisonnalisation des données qui aurait permis d'étudier le chaos interne (mouvements résiduels et perturbations) considérant que le nombre de cycles annuels étudiés ici est trop faible. Toutefois, l'expression trigonométrique des deux séries chronologiques de données de populations de nématodes permet après filtrage (figure 3.41) de mieux visualiser leurs composantes saisonnières et de montrer que les schémas de fluctuations



sont globalement similaires malgré quelques variantes. Cependant l'analyse purement mathématique ne peut en aucun cas rendre compte des décalages ou perturbations climatiques régissant ici les fluctuations de populations.

Les deux périodes de croissance de populations de *Pratylenchus* sont très différentes du point de vue du régime hydrique (figures 3.38 et 3.41). La première période correspond à la saison sèche avec en général un seul pic observé sur le site de Buena Vista et apparemment deux pics sur le site de Moca. La seconde période de croissance des populations a lieu au début de la saison des pluies. Il n'y a donc pas de relation simple et directe entre l'apparition des pics de populations et la quantité de précipitations. Il convient donc de rechercher d'autres facteurs régulateurs des populations de *Pratylenchus* tel que les rythmes phénologiques de la plante qui dépendent directement et fortement du régime climatique et principalement hydrique (voir chapitre 1 § 1.5).

La saison sèche durant laquelle apparaît une période de populations maximales de *Pratylenchus* correspond à une période de croissance des racines les plus fines (Wakefiel, 1933 ; Cannell, 1971 ; Huxley & Turk, 1975 ; Maestri & Barros, 1977). Cette période de croissance racinaire précède la période de croissance des tiges de mars à mai (Vasudeva & Ramaiah, 1979 ; San Juan *et al.*, 1982 ; Cannell, 1985). Il a été montré que l'attractivité des racines de plants de *Lycopersicon esculentum* pour *Meloidogyne hapla* disparaît lorsque la croissance racinaire est stoppée ou ralentie (Lowsbery & Viglierchio, 1961). De même l'attractivité de *Daucus carota* et *Lycopersicon esculentum* vis-à-vis de *P. penetrans* est proportionnelle au taux de croissance de leurs racines (Lavalley & Rhode, 1962). La même observation a été faite pour *Lycopersicon esculentum* vis-à-vis de *M. hapla* (Weiser, 1955). La seconde période de croissance des populations qui a lieu en juin-juillet durant la première moitié de la saison des pluies semble également coïncider avec une seconde période de croissance racinaire. Celle-ci précède en effet un pic de croissance rapide des rameaux de juillet à septembre (Vasudeva & Ramaiah, 1979 ; Cannell, 1985) effectivement observé au Guatemala (San Juan *et al.*, 1982). Ce pic de population coïncide certaines années, avec la courte période dite de "canicule" caractérisée par une moindre pluviosité. Ces observations faites sur les deux périodes de populations maximales de *Pratylenchus* en relation avec une croissance racinaire plus importante des caféiers est en accord



avec les observations d'O'Bannon *et al.* (1972) ainsi que de Duncan & Noling (1987). Ces auteurs ont en effet montré que les populations de *Tylenchulus semipenetrans* sur racines de *Citrus* en Floride augmentent à la suite de la forte croissance raculaire de ces arbres qui dans ce cas intervient en automne. De même, Quénéhervé (1989 a et b) a montré que les pics de populations de *P. coffeae* et *Radopholus similis* sur bananiers en Côte d'Ivoire correspondaient aux périodes d'émergence de racines des plants. Une étude des fluctuations d'une population identifiée comme *P. coffeae* a été menée sur caféiers au Salvador (Gil-Faggiolly & Hanania-Chavez, 1982) à une altitude de 1200 m donc similaire à celle du site de Moca. Ces auteurs ont observé la présence d'un pic de populations au début de la saison des pluies, en mai-juin, correspondant au pic observé en juin-juillet sur les sites de l'étude. En revanche, ces auteurs n'ont décelé aucun pic de populations durant la saison sèche, les populations se maintenant à des niveaux très faibles durant toute la saison sèche (< 20 nématodes par de racines), contrairement aux observations de notre étude. Il est possible que des conditions particulières au site étudié ne permettent pas la croissance des populations de *Pratylenchus* durant la saison sèche. Il est de plus possible que la population étudiée identifiée comme *P. coffeae* appartienne en effet à une autre espèce que celle(s) présente(s) sur les deux sites Buena Vista et Moca. Cette population pourrait être plus thermophile que ne le sont les isolats Buena Vista et Moca, tout comme le sont les isolats Chitalon et Chamtaca ou l'espèce *P. coffeae* selon diverses études (voir chapitre 3. § 2.2.). Dans ce cas, les basses températures habituellement enregistrées durant la saison sèche à cette altitude pourraient inhiber la croissance d'une population de *Pratylenchus* thermophile. Ces auteurs observent d'ailleurs une corrélation positive entre les niveaux de populations et les températures minimales près du sol. Il faut cependant rappeler que leur étude ne s'est déroulé que sur une année et qu'un phénomène exceptionnel aurait pu masquer le cycle de croissance de populations durant cette période.

Il semble exister une corrélation négative entre les niveaux maximum de populations atteints lors de la saison sèche et la quantité de précipitations atmosphériques de la précédente saison des pluies. Sur le site Buena Vista, les niveaux atteints lors des saisons sèches de 1991 et 1992 sont supérieurs à ceux observés durant les saisons sèches de 1989 et 1990. Or les pics de 1991 et 1992 ont fait suite à des précipitations annuelles de seulement 3800 et 3100 mm respectivement (1990 et 1991) alors que les pics de 1989 et 1990 ont fait suite à des précipitations

annuelles plus élevées de 4300 et 4800 mm respectivement (1988 et 1989). Il en est de même pour les site de Moca. Les deux pics très marqués de la saison sèche de l'année 1995 font suite à une année (1994) à cumul de précipitations plus faible que les autres années (3700 mm). En revanche, les pics de populations moins marqués des saisons sèches des années 1994 et 1996 font suite à des années (1993 et 1995) de plus fortes précipitations : 4600 et 5800 mm respectivement. Cette tendance est tout à fait intéressante dans un but de prévision des populations de nématodes et doit donc faire l'objet d'études complémentaires.

Les niveaux de populations de nématodes les plus bas de l'année sont observés en fin de saison des pluies sur le site de Buena Vista après que fut produit le pic de population de la première moitié de la saison des pluies (juin-juillet) ou bien au tout début de la saison sèche juste avant le pic de populations de la saison sèche sur le site de Moca (figure 3.38). Sur les deux sites, ces périodes de faibles densités de populations de *Pratylenchus* coïncident avec l'époque de maturation des fruits. La date à laquelle débute cette période de maturation des fruits dépend d'une part des dates de floraison déclenchées par les premières pluies et d'autre part de l'altitude qui va influencer sur la durée de développement des fruits. Il y a donc un retard de maturité des fruits sur le site de Moca par rapport au site de Buena Vista en relation avec la température plus faible en altitude. En dehors de cette période de maturation, entre les deux périodes de pics de la saison sèche et du début de la saison des pluies, les populations se maintiennent à des niveaux intermédiaires.

Pour expliquer les faibles niveaux de population de nématodes durant la maturation des fruits, il faut rappeler que cette dernière a pour conséquence un drainage important des hydrates de carbone vers les fruits aux dépens des racines et principalement des racines les plus fines qui voient leur croissance stoppée avec une importante mortalité des plus fines racelles (Cannell & Huxley, 1969 ; Cannell, 1971). Ces racelles sont généralement plus parasitées par *Pratylenchus* que les racines déjà lignifiées. Ces résultats sont en accord avec certaines observations réalisées sur *Citrus* en Floride montrant que la diminution de la biomasse de racelles et la faible disponibilité d'hydrates de carbone dans les racines durant la fructification provoquaient des faibles niveaux de population de *Tylenchulus semipenetrans* sur *Citrus* durant l'été (Duncan & Cohn, 1990). Il a d'ailleurs été montré que l'élimination des fruits sur l'arbre



durant 15 mois entraînait une augmentation de 40% de la fécondité des femelles de *T. semipenetrans*, les niveaux de population augmentant en conséquence d'un facteur cinq (Duncan & Eissenstat, 1993).

D'autres facteurs importants à considérer sont les conditions du sol avec une humidité permanente et des températures plutôt élevées avec une faible amplitude diurne-nocturne durant la seconde moitié de la saison des pluies, en particulier sur le site de Buena Vista (annexes 3 et 4). Cette période est donc tout à fait favorable à des pathogènes secondaires tels que des bactéries ou des champignons comme *Fusarium* spp. souvent associés aux attaques de nématodes (Minton & Minton, 1963 ; Porter & Powell, 1967 ; Powell, 1971 ; Varela-Ramirez, 1983 ; Negron & Acosta, 1989 ) et en particulier de *Pratylenchus* (Martin *et al.*, 1956 ; Powel, 1963 et 1971 ; Seinhorst, 1971 ; Mauza & Webster, 1982 ; Montalvo & Melendez, 1986). On peut imaginer que les lésions produites par les pullulations de *Pratylenchus* au début de la saison des pluies, comme l'ont constaté O'Bannon *et al.* (1972) sur racines de *Citrus*, sont envahies très rapidement par ces pathogènes secondaires durant la deuxième moitié de la saison des pluies après la canicule. Il en résulte une dégradation accélérée des racines entraînant du même coup une importante diminution du support alimentaire des populations de *Pratylenchus*. Cette importante dégradation des racines a effectivement été observée lors des prélèvements de racines durant cette période. Les pathogènes secondaires constituent par exemple un facteur limitant important pour la croissance des populations de *R. similis* dans les radicelles de *Citrus* (Ducharme & Price, 1966). Ces pathogènes secondaires à croissance très rapide entrent directement en compétition pour l'espace et la disponibilité des ressources alimentaires. Les conditions moins favorables de la saison sèche pour le développement de ces pathogènes secondaires permettrait ainsi de limiter la dégradation des racines infestées par les nématodes. Cela pourrait expliquer pourquoi les niveaux de populations observés durant la période de régression en fin de saison sèche n'atteignent pas des niveaux aussi bas que ceux observés durant la période de régression intervenant durant la seconde moitié de la saison des pluies.

Par ailleurs, Norton (1978) fait remarquer que d'une manière générale, l'humidité excessive du sol, qu'elle soit due aux précipitations ou à l'irrigation, entraîne un déclin des populations de nématodes. En Côte d'Ivoire, les niveaux de population de *P. coffeae* dans les racines de bananiers sont corrélés négativement avec la quantité de précipitations atmosphériques



(Quénéhervé, 1989a et b). Cet auteur n'observe d'ailleurs aucun pic de populations ni de *P. coffeae* ni de *Radopholus similis* durant la saison des pluies. Les mêmes observations également été faites pour *Tylenchorhynchus* spp. en Louisiane (Hollis & Fielding, 1958). De même, un ralentissement de la croissance des populations de *P. brachyurus* dans les racines de *Ananas comosus* est observé durant la période de plus grande pluviosité lorsque les sols sont saturés en eau (Sarah & Hugon, 1991). L'augmentation des fréquences et des volumes d'irrigation sur *Citrus* ont un effet dépressif sur les populations de *Hemicycliophora arenaria* probablement du fait d'une mauvaise diffusion d'oxygène dans le sol affectant la reproduction des nématodes et/ou la croissance des racines (Van gundy *et al.*, 1968). Il a d'ailleurs été démontré que l'immersion des sols pouvait être un moyen de lutte contre les nématodes (Hollis & Rodriguez-Kabana, 1966 ; Sarah *et al.*, 1983). On peut cependant s'interroger sur un réel effet direct de saturation en eau du sol sur les populations de nématodes dans le cas présent puisque les sols des deux sites de l'étude sont de nature volcanique (sols andiques) et possèdent donc un potentiel drainant très important (Muller, 1996). Les fluctuations de populations de *P. coffeae* dans le sol (0-25 cm de profondeur) au voisinage des racines de *C. arabica*, *C. canephora* et *Citrus reticulata* ont été étudiées dans le sud de l'Inde où le régime hydrique est globalement similaire à celui observé au Guatemala (Kumar, 1991). Cet auteur a observé sur ces trois plantes, un seul pic de populations de *P. coffeae* dans le sol, en fin de saison des pluies, d'août à octobre. Ce pic de populations au niveau du sol coïncide donc avec nos observations de niveaux de populations les plus bas, dans les racines. Une hypothèse serait que ces populations observées dans le sol par Kumar (1991) résultent d'une migration importante des nématodes des racines vers le sol du fait de conditions trop défavorables dans les racines. Gil-Faggiolli & Hanania-Chavez (1982) dans leur étude sur *C. arabica* au Salvador, ont observé durant la période, de juillet à septembre, de faibles niveaux de population de *P. coffeae* dans les racines (60 nématodes par g de racines), en accord avec nos résultats.

La structure des populations de *Pratylenchus* reste à peu près stable tout au long de l'année, sur les deux sites. Les fluctuations de populations des différents stades de développement, juvéniles et adultes des deux sexes, sont synchrones. Les mêmes observations ont été faites pour *P. penetrans* sur *Solanum tuberosum* (MacGuidwin, 1989) et sur *Rubus idaeus* Vrain *et al.*

(1997). Sur les deux sites d'étude, les variations observées sur le sex-ratio, de l'ordre de 25%, semblent aléatoires (voir populations de mâles et femelles, figure 3.42). Aucune relation simple n'a pu être mise en évidence entre le sex-ratio et la densité de populations ou le régime hydrique ou les rythmes physiologiques des caféiers. De plus, les autocorrélogrammes des deux séries chronologiques de valeurs du sex-ratio ne montrent aucune saisonnalité claire et l'on n'observe qu'un bruit blanc au cours du temps. Le déterminisme de la différenciation sexuelle chez des espèces amphimictiques de *Pratylenchus* comme *P. coffeae* et *P. vulnus* semble être de type chromosomique bien que cela n'ait pas été formellement démontré (Roman & Triantaphyllou, 1969 ; Triantaphyllou, 1971). Les variations observées au niveau du sex-ratio résulteraient donc d'effets du milieu sur la survie de l'un et/ou l'autre des deux sexes, au stade adulte ou juvénile. Les principaux facteurs faisant varier les paramètres de survie de façon différentielle entre les deux sexes restent à identifier. Il apparaît une densité-dépendance de l'indice oeufs / femelles (figure 3.43). Cette relation peut s'expliquer par une perte de fertilité des femelles aux plus fortes densités de populations et/ou par une diminution du taux d'éclosion des oeufs aux faibles densités parce qu'elles coïncident avec des périodes défavorables, en fin de saison des pluies et durant la phase de maturation des fruits.

Il apparaît sur les deux sites une densité-dépendance de la croissance des populations de *Pratylenchus* visualisée par l'autorégression des données de densité de populations (figure 3.44) et la relation entre le taux de multiplication et la densité de population (figure 3.45). La première relation permet de définir grossièrement un seuil de population critique à partir duquel les populations tendent toujours à décroître. La seconde relation permet de calculer plus précisément par régression linéaire un niveau de population d'équilibre  $E$  pour lequel la population en moyenne ne croît pas. Cette densité-dépendance est due aux limitations des ressources alimentaires et aux dégâts générés sur l'hôte (Ferris, 1985). Il y a donc en plus des facteurs régulateurs externes comme la physiologie de la plante hôte, des facteurs intrinsèques d'autorégulation des populations par phénomènes de densité-dépendance. Il faut cependant rappeler que les observations ne portent que sur les individus dans les racines et que l'aspect migratoire des populations vers le sol n'est pas pris en compte. Cette densité-dépendance des fluctuations saisonnières de populations est exacerbée par l'échelle des foyers d'infestation des



nématodes, ceux-ci étant concentrés sur des faibles portions de racines avec une distribution fortement agrégative (voir chapitre 3 : § 2.3.1.). Les conséquences de la dégradation du système racinaire engendrée par les nématodes et les pathogènes secondaires conduisent localement à un épuisement rapide des ressources alimentaires, induisant une extinction des effectifs, sur les sites d'infestation.

Les différents paramètres de croissance de la population de Moca sont tous supérieurs à ceux observés pour la population de Buena Vista : les niveaux maximums de populations (800 nématodes par g de racines et 350 nématodes par g de racines, respectivement, figure 3.38) ; le niveau critique à partir duquel les populations tendent toujours à décroître (500 et 550 nématodes par g de racines et 200 et 250 nématodes par g de racines, respectivement) ; les niveaux de population d'équilibre *E* (300 et 135 nématodes par g de racines, respectivement) et les valeurs maximums des taux de multiplication (6,3 et 3,3 ; respectivement). Cela peut s'expliquer par des différences biologiques intrinsèques entre les deux populations étudiées. La population de Moca posséderait selon cette hypothèse une fécondité et une fertilité sur *C. arabica* plus importante que la population de Buena Vista. La population de Buena Vista n'ayant pas pu être incluse dans les études comparées de capacités reproductive et parasitaire, cette hypothèse reste à vérifier. Cela peut aussi être dû à des conditions plus favorables sur le site de Moca. Elles peuvent être d'ordre abiotiques essentiellement climatiques en relations avec l'altitude, les conditions physico-chimiques des sols étant globalement similaires (voir chapitre 2. § 1.1.). Elles peuvent être également d'ordre biotique : statut d'hôte des caféiers en relation avec les conditions agro-écologiques, les deux cultivars présents sur les sites étant génétiquement proches (voir chapitre 1 § 1.6.2) ; microflore et microfaune tellurique (autres pathogènes compétiteurs, prédateurs ou parasites). Duncan & McSorley (1987) commentent cette influence du milieu sur les paramètres de la relation de densité-dépendance de la croissance de populations de nématodes (taux maximum de multiplication et valeur d'équilibre *E*) à travers de nombreux exemples : température de l'air et du sol, humidité du sol, oxygénation du sol, fertilité du sol, texture du sol, pratiques agronomiques. Dans ce sens une influence du milieu sur cette relation de densité-dépendance est observée pour des populations de *M. incognita* sur *Lycopersicon esculentum* (Ferris, 1985).

Concernant la plante hôte, les caféiers du site Moca ont un âge supérieur à ceux de la parcelle de Buena Vista (10 et 5 ans d'âge respectivement, au début de l'étude). Mais plus



important encore est le fait que les plants du site de Moca étaient en fin de cycle de taille (dernier recépage en 1989) alors que le recépage avait eu lieu un an et demi avant le début de l'étude sur le site de Buena Vista. Ils sont de plus cultivés à une altitude supérieure (1200 m contre 450 m) avec un climat différent avec des températures plus basses et des précipitations plus importantes. Dans ces conditions, les caféiers du site Moca pourraient constituer un hôte plus favorable et/ou plus tolérant que les caféiers de basse altitude du site Buena Vista puisque permettant de plus hautes densités de populations maximales et d'équilibre. Il a en effet été montré que le facteur température a un effet important sur la croissance racinaire. La température du sol optimale pour la croissance des racines de *C. arabica* se situe autour de 26°C tandis qu'au dessus de 28°C, lorsque la température augmente la croissance des racines chute très rapidement pour être totalement stoppée à 36°C (Franco, 1958 ; Magalhaes, 1975). Les températures de l'air sur le site de Buena Vista, situé à basse altitude (450 m), sont en moyenne d'environ 25°C et à peu près constantes tout au long de l'année, les moyennes mensuelles de températures maximales étant supérieures à 30°C tout au long de l'année. On observe même des maximums absolus de température avoisinant les 40°C durant la saison sèche et la seconde moitié de la saison des pluies (voir chapitre 2. § 1.1.). Sur le site de Moca, en revanche, les moyennes mensuelles de températures maximales ne dépassent pas les 25°C. Les conditions de température à certaines périodes de la saison sèche sur le site de Buena Vista pourraient donc être défavorables à la croissance racinaire. Cela pourrait expliquer pourquoi la période de populations maximums observée durant la saison sèche est de plus longue durée sur le site de Moca.

Une autre hypothèse possible concernant le facteur thermique est un effet direct sur les populations. Les isolats Buena Vista et Moca morphologiquement très proches d'après leur observation au microscope électronique à balayage (voir chapitre 3. § 1.1) pourraient appartenir à une même espèce. L'isolat Moca dont l'optimum thermique se situerait entre 24°C et 27°C semble montrer une forte sensibilité aux températures plus élevées avec un effet dépressif important sur son développement dès 30°C (voir chapitre 3. § 2.2). L'isolat Buena Vista semble montrer un comportement similaire vis-à-vis de la température selon Hervé (1997). Le facteur altitude pourrait de ce fait expliquer les différences observées sur les paramètres de croissance de populations et les effectifs maximum atteints entre les deux sites. Les conditions thermiques du site Buena Vista décrites dans le paragraphe précédent pourraient donc être moins favorables au

développement de la population de *Pratylenchus* présente sur ce site que ne le sont les conditions du site de Moca. Les deux pics de températures maximales absolues avoisinant les 40°C en fin de saison sèche et en août coïncident d'ailleurs avec les deux périodes de régression des populations. Même si le facteur température n'explique probablement pas à lui seul ces périodes de régression des populations, il pourrait y contribuer. Cela pourrait ainsi expliquer pourquoi les périodes de régression de populations sur le site de Moca sont plus marquées. Ces hypothèses restent à vérifier, ce qui implique tout d'abord une meilleure connaissance du cycle biologique de ces populations et un suivi précis des températures du sol.

Un autre facteur à prendre en compte, également en relation avec la température et l'humidité du sol, est la présence de pathogènes secondaires. Ceux-ci peuvent en effet influencer les paramètres de densité-dépendance puisqu'ils contribuent à la dégradation des racines infestées par les nématodes, contribuant ainsi à limiter les disponibilités de ressources alimentaires et d'espace pour les nématodes et donc leur taux de multiplication comme l'ont montré Ducharme et Price (1966). L'action de ces pathogènes secondaires sera d'autant plus déterminante que les pics de populations de nématodes interviendront durant des époques qui leur sont favorables, c'est-à-dire durant la saison des pluies où l'humidité du sol est plus importante. Le développement de ces pathogènes secondaires est également très dépendant des conditions de températures, d'humidité, d'oxygénation du sol et qui sont différentes entre les deux sites étudiés. On observe des périodes prolongées (août-octobre) à faibles effectifs de *Pratylenchus* sur le site de Buena Vista et qui n'apparaissent pas aussi bien marquées sur le site de Moca. Cette différence pourrait s'expliquer par les températures plus élevées du site de Buena Vista et qui par conséquent devraient être plus favorables au développement de la plupart des pathogènes secondaires.

#### ***Implications pour la lutte contre *Pratylenchus* dans les caféières :***

Les résultats de cette étude montrent la difficulté d'établir un seuil économique d'intervention standardisé. Les fluctuations de populations de *Pratylenchus* au cours de l'année sont très rapides et avec des amplitudes très importantes. De plus, la chronologie des fluctuations des populations varie d'une année sur l'autre en relation avec la phénologie de la plante qui est elle-même dépendante des variations climatiques. La date de prélèvement a donc une influence



considérable sur les niveaux de populations qui peuvent être observés. Ces variations extrêmes et rapides de populations ont également des conséquences au niveau de l'expérimentation au champ. Elles obligent à des échantillonnages fréquents afin d'obtenir des évaluations satisfaisantes des niveaux de populations dans les parcelles expérimentales. Les différences de densités de populations de nématodes en équilibre et maximums entre les deux sites montrent que le statut d'hôte des caféiers peut varier en relation avec les conditions de l'agrosystème. Les niveaux de populations observés peuvent donc avoir des significations différentes pour la plante selon le site. On peut tout de même tirer quelques tendances générales pour la lutte. Ces résultats confirment que le début de la saison des pluies constitue une date optimale d'applications de nématicides pour maîtriser le pic de populations qui intervient en juin-juillet. Cependant il apparaît important de réaliser les applications le plus tôt possible tant que les populations sont encore à des niveaux bas en particulier en altitude comme sur le site de Moca où des pics de populations interviennent très tôt durant la saison des pluies. Ces applications de nématicides doivent donc être réalisées dès que l'humidité du sol le permet d'avril à mai suivant les années. La gestion du pic de populations des saisons sèches revêt un intérêt phytosanitaire important puisque ce pic intervient durant une période importante de croissance racinaire comme cela a été discuté précédemment. Les principaux produits nématicides utilisés actuellement sont formulés en granulés. Leur application ne peut être envisagée durant la saison sèche puisqu'ils requièrent une certaine humidité du sol pour être actifs. Des applications effectuées en fin de saison des pluies lorsque l'humidité du sol est encore satisfaisante permettraient de contrôler le pic de la saison sèche. Il se pose alors un problème de toxicité puisque ces applications de nématicides coïncideraient avec la période de récolte à certaines altitudes. Il est donc impératif de développer des méthodes alternatives à la lutte chimique contre les nématodes dans les caféières.

### ***Conclusions et perspectives :***

Les facteurs saisonniers des fluctuations de populations de *Pratylenchus* sur les deux sites étudiés s'expliquent par les rythmes phénologiques des caféiers en interaction avec les facteurs climatiques. Ces résultats sont en accord avec d'autres pathosystèmes également étudiés en conditions tropicales ou subtropicales. C'est le cas de *R. similis* sur bananiers pour lequel les



principaux facteurs affectant ses niveaux de populations sont les phases de croissance de la plante et le régime hydrique (Jaramillo & Figueroa, 1974 ; Quénéhervé, 1989 a et b). De même, les fluctuations saisonnières de densités de population de *Tylenchulus semipenetrans* sur *Citrus* sont intimement liées aux rythmes phénologiques de la plante et plus particulièrement les périodes de croissance racinaire et de fructification, en interaction avec le régime hydrique (Duncan & Cohn, 1990 ; Duncan & Eissenstat, 1993). De plus des facteurs intrinsèques des populations de *Pratylenchus* de densité-dépendance interviennent également pour autoréguler les populations dans les racines en jouant probablement sur la fécondité des femelles et la survie des différents stades physiologiques du cycle de développement.

Une meilleure compréhension des phases de régression rapide des populations dans les racines de caféiers est nécessaire en tentant d'évaluer la part liée à une éventuelle migration des nématodes des racines vers le sol et la part liée à des "mortalités catastrophes" par des étude de dynamique de populations dans les deux "compartiments" racines et sol. La détermination des facteurs régulateurs des populations de *Pratylenchus* sur une plante pérenne comme celle des caféiers ne peut se faire sans une connaissance précise de la dynamique de croissance de la biomasse racinaire, en terme quantitatif mais aussi en terme qualitatif comme le mentionnent Duncan & McSorley (1987) dans le cas des nématodes sur *Citrus*. Les variations de la constitution chimique des racines, en relation avec les rythmes phénologiques de la plante (croissance des rameaux, floraison, fructification et maturation des fruits) tel que la concentration en hydrates de carbone comme principale source nutritionnelle ou la concentration en composés phénoliques comme éventuelle réponse de la plante aux infestations de nématodes constituent des informations importantes pour la compréhension des fluctuations de populations de *Pratylenchus*.

Les facteurs climatiques ont un effet direct sur les nématodes. La température semble notamment jouer un rôle important sur l'amplitude des fluctuations de populations et les niveaux d'équilibre moyens de ces populations d'organismes poïkilothermes. Ce facteur expliquerait les niveaux de populations (maximums et d'équilibre) supérieurs observés sur le site de Moca qui se situe à une altitude supérieure. Ce facteur pourrait également expliquer la plus longue durée de la période de populations maximums durant la saison sèche. Ce facteur pourrait également expliquer d'éventuelles différences de schémas de fluctuations de populations observées avec d'autres espèces plus thermophiles comme celle à laquelle appartient l'isolat Chitalon ou l'isolat

Chamtaca. Des indicateurs climatiques telluriques précis permettraient une meilleure compréhension des phénomènes biologiques intervenant dans le sol tant au niveau du système racinaire de la plante que directement au niveau des populations de nématodes ou bien de l'activité biologique du sol en général. La mesure de l'ETP permettant de calculer le bilan hydrique du sol ainsi que le suivi complet des températures du sol, incluant les minimales et maximales, sont donc indispensables. Une approche statistique des corrélations entre ces facteurs climatiques et les populations de *Pratylenchus* par la méthode du corrélogramme proposée par Goldwin (1982) pourrait permettre de déterminer pour chaque facteur climatique des périodes critiques de l'année qui soient les plus influentes sur le développement des populations de *Pratylenchus* comme cela a été fait pour d'autres ravageurs. Pierre *et al.* (1986) ont ainsi pu montrer par cette méthode l'influence de réchauffements hivernaux sur les pullulations de printemps des principales espèces de pucerons des céréales. Cette méthode statistique est d'autant plus intéressante sur une culture pérenne comme celle des caféiers qu'elle permet d'étudier des effets à long terme. Une désaisonnalisation de différentes séries chronologiques permettraient également d'étudier les corrélations entre les fluctuations erratiques et les perturbations avec les facteurs climatiques de nature fortement accidentelle. On peut de plus envisager d'intégrer les variables quantitatives relatives à la phénologie des caféiers tel que la croissance des racines et des rameaux. L'alternance entre croissance des tiges et croissance racinaire constitue un aspect important dans les rythmes phénologiques des caféiers et qui d'une façon générale influence les populations de nématodes chez les plantes pérennes (Duncan & McSorley, 1987). Enfin la réalisation de telles études devra se faire selon une approche par peuplements en prenant en compte également les autres nématodes phytoparasites ainsi que, et surtout, les pathogènes secondaires qui peuvent aussi contribuer à l'épuisement des ressources trophiques.

### **3.2. Evaluation pour une population naturelle de *Pratylenchus* de sa capacité à causer des dégâts dans une caféière et effets du greffage et des traitements nématicides**

#### **3.2.1. Résultats**

##### *Populations de nématodes :*

Durant la première année d'échantillonnage (1992), les densités de populations de *Pratylenchus* dans les parcelles avec applications de nématicide sont significativement inférieures ( $P \leq 0,05$ ) à celles observées dans les parcelles non traitées, que les plants soient ou ne soient pas greffés (tableau 3.17). Durant les années suivantes il n'apparaît pas d'effet significatif ( $P \leq 0,05$ ) du traitement nématicide sur les densités de populations de *Pratylenchus*.

Les densités de populations de *Pratylenchus* observées dans les parcelles de plants greffés sont significativement inférieures ( $P \leq 0,05$ ) à celles des parcelles de plants non greffés. La seule exception concerne les données de 1993, année durant laquelle on n'observe pas de différence significative ( $P \leq 0,05$ ) entre plants greffés et plants non greffés, pour cette variable. Le coefficient de variation sur les données même transformées en  $\log[+1]$  est de 45% pour cette année. La densité de populations moyenne de *Pratylenchus* sur la durée totale de l'étude est pour les parcelles de plants greffés, significativement inférieure ( $P \leq 0,001$ ) à celle observée dans les parcelles de plants non greffés.

Dans les parcelles de plants greffés, la densité de populations moyenne de *Pratylenchus* est positivement corrélée ( $r^2 = 0,57$  ;  $P = 0,031$ ) avec l'indice d'ombrage (figure 3.46) tandis que ce dernier n'influence pas significativement ( $r^2 = 0,15$  ;  $P = 0,338$ ) les densités de populations de *Pratylenchus* dans les parcelles de plants non greffés.

##### *Taux de mortalité des plants :*

Durant la première année, le taux de mortalité des plants reste en dessous de 5% dans toutes les parcelles expérimentales. Aucun effet significatif ni du traitement nématicide ( $P = 0,660$ ) ni du greffage ( $P = 0,380$ ) n'est décelé. Les années suivantes, le taux de mortalité de plants



**Tableau 3.17** Influence du greffage sur *C. canephora* et des traitements nématocides (deux applications par an de 1 à 2 g de terbufos par plant) sur les densités de populations de *Pratylenchus* sur caféiers.

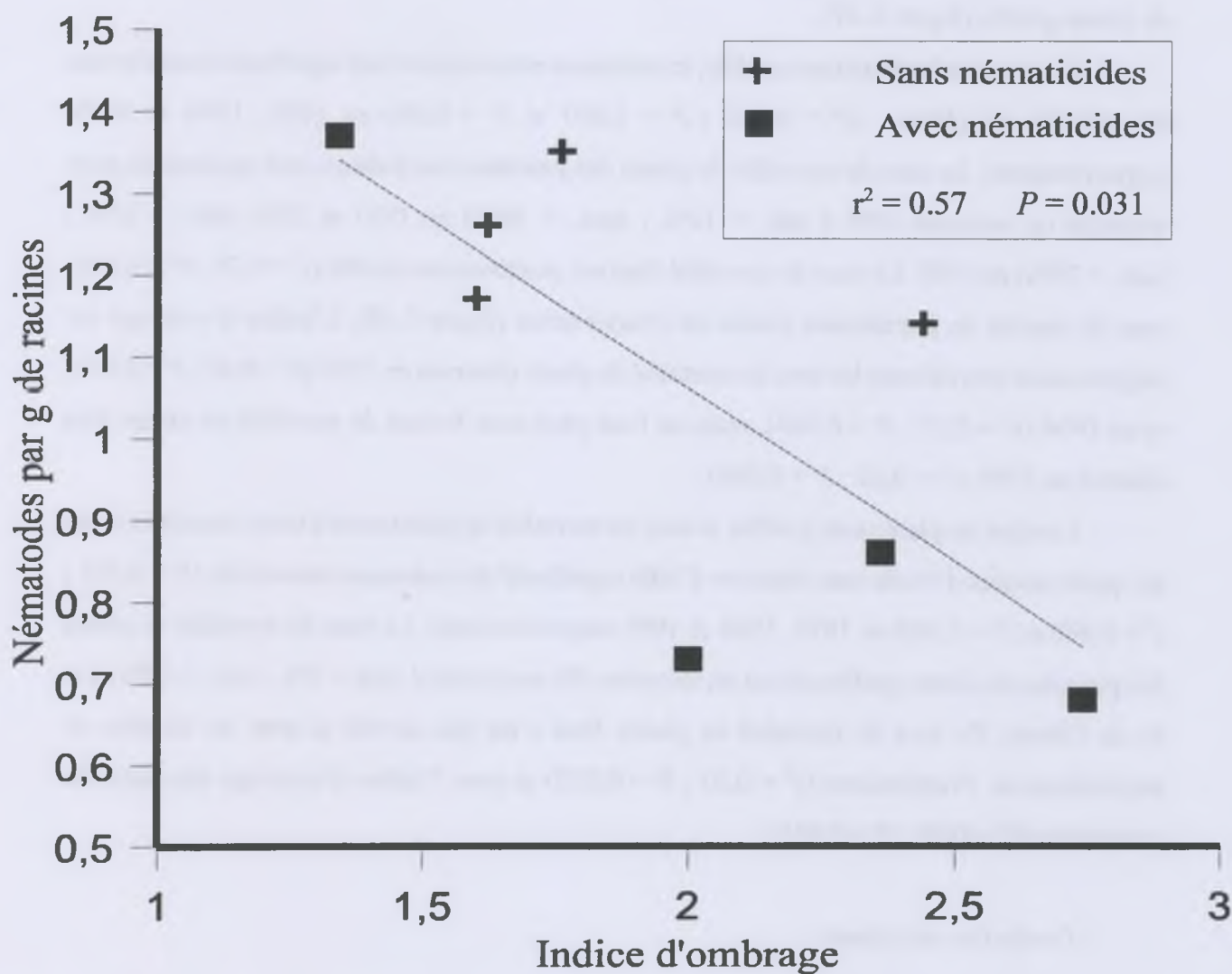
Traitement nématocide	Densités de populations de nématodes / g de racines														
	Année 1992			Année 1993			Année 1994			Année 1995			Moyenne des quatre années		
	Greffage		Moyenne	Greffage		Moyenne	Greffage		Moyenne	Greffage		Moyenne	Greffage		Moyenne
	NG	G		NG	G		NG	G		NG	G		NG	G	
Sans	54	12	33 a	37	19	28	28	22	25	132	23	78	63	19	41
Avec	19	6	13 b	38	19	29	29	8	18	135	29	82	55	15	35
Moyenne	36 a	9 b	23	38	19	28	29 a	15 b	22	134 a	26 b	80	59a	17b	38
Effet greffage		**			ns						**			**	
Effet nématocide					ns			ns			ns			ns	
Interaction		ns			ns			ns			ns			ns	
CV (%)		20,8			45,1			27,4			20,7			21,0	
Ecart Type résiduel		0,24			0,53			0,32			0,34			0,27	

Les moyennes suivies d’une lettre différentes sont significativement différentes selon le test de Newman & Keuls ( $P \leq 0, 05$ )

\* Significatif au seuil  $P \leq 0, 05$

\*\* Significatif au seuil  $P \leq 0, 001$

Les données ont été transformées en  $\log(x+1)$  pour réalisées l’analyse de variance



**Figure 3.46.** Relation entre l'indice d'ombrage et la densité de populations moyenne de *Pratylenchus* (moyenne des effectifs par g de racines, de 1992 à 1995 transformés en  $\log[x+1]$ ) dans les parcelles de plants greffés de *C. arabica*, avec ou sans traitements nématicides (1 à 2 g de terbufos par plant, deux fois par an).

augmente beaucoup plus rapidement dans les parcelles de plants non greffés que dans les parcelles de plants greffés (figure 3.47).

Concernant les plants non greffés, le traitement nématicide réduit significativement le taux de mortalité de plants ( $P = 0,002$  ;  $P = 0,007$  et  $P = 0,006$  en 1993, 1994 et 1995, respectivement). Le taux de mortalité de plants des parcelles non traitées croît rapidement pour atteindre en moyenne 24% (min. = 12% ; max. = 36%) en 1993 et 50% (min. = 25% ; max. = 76%) en 1995. Le taux de mortalité final est positivement corrélé ( $r^2 = 0,76$  ;  $P = 0,005$ ) avec la densité de populations initiale de *Pratylenchus* (figure 3.48). L'indice d'ombrage est négativement corrélé avec les taux de mortalité de plants observés en 1993 ( $r^2 = 0,65$  ;  $P = 0,016$ ) et en 1994 ( $r^2 = 0,52$  ;  $P = 0,044$ ), mais ne l'est plus avec le taux de mortalité de plants final observé en 1995 ( $r^2 = 0,42$  ;  $P = 0,084$ ).

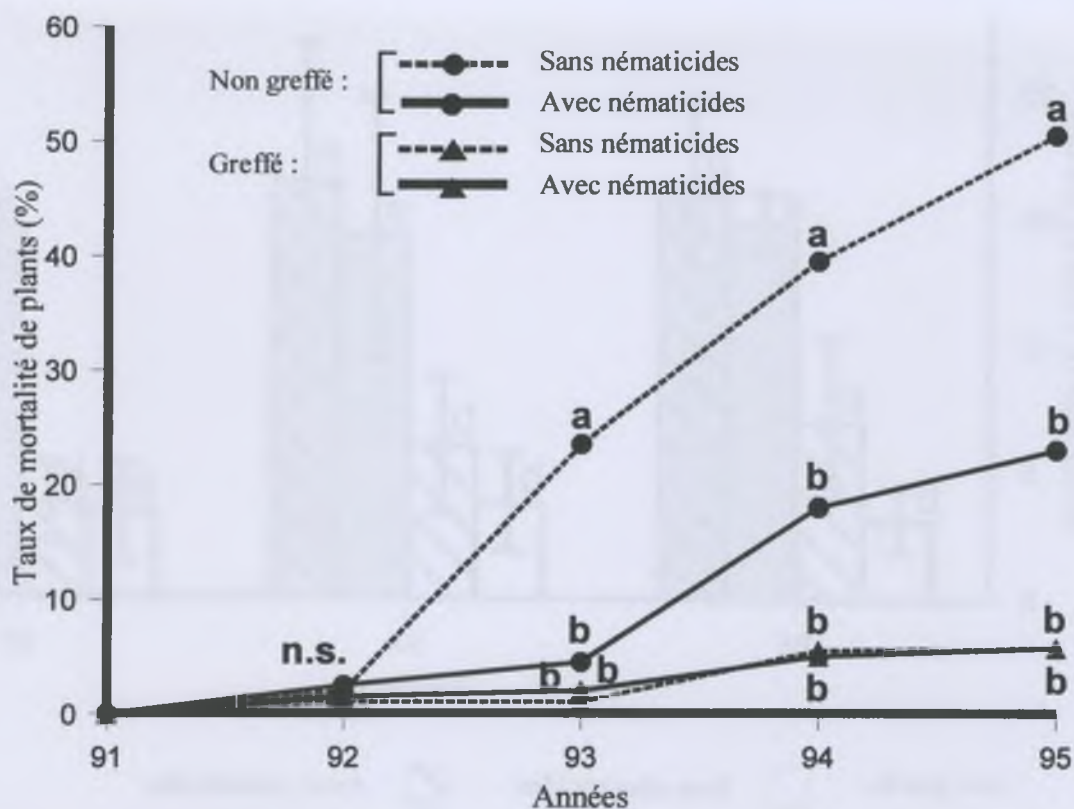
Lorsque les plants sont greffés, le taux de mortalité de plants reste à un niveau très bas sur les quatre années d'étude sans observer d'effet significatif du traitement nématicide ( $P = 0,833$  ;  $P = 0,940$  et  $P = 1,000$  en 1993, 1994 et 1995 respectivement). Le taux de mortalité de plants des parcelles de plants greffés atteint en moyenne 6% seulement (min. = 0% ; max. = 15%) à la fin de l'étude. Ce taux de mortalité de plants final n'est pas corrélé ni avec les densités de populations de *Pratylenchus* ( $r^2 = 0,03$  ;  $P = 0,932$ ) ni avec l'indice d'ombrage des parcelles concernées ( $r^2 = 0,04$  ;  $P = 0,651$ ).

#### *Production des plants :*

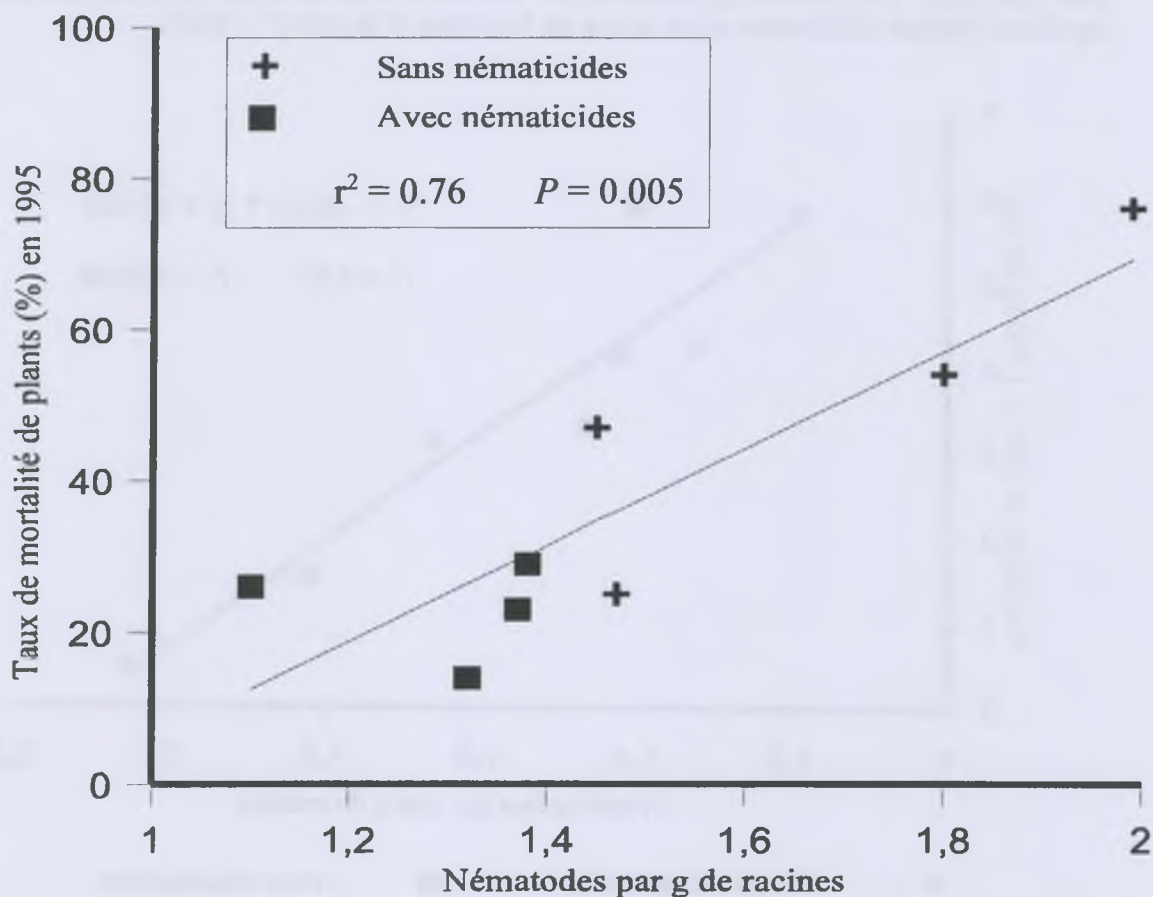
Les traitements nématicides n'ont pas d'effet significatif sur la production pour les trois récoltes observées ( $P = 0,077$  ;  $P = 0,357$  et  $P = 0,311$  en 1993, 1994 et 1995, respectivement) que les plants soient greffés ou non (figure 3.49).

La production des parcelles de plants non greffés en 1995 est négativement corrélée ( $r^2 = 0,87$  ;  $P = 0,001$ ) avec la densité de populations moyenne de *Pratylenchus* (figure 3.50). La production des parcelles de plants non greffés n'est pas significativement corrélée avec l'indice d'ombrage ( $r^2 = 0,47$  et  $P = 0,060$  ;  $r^2 = 0,43$  et  $P = 0,079$  ;  $r^2 = 0,17$  et  $P = 0,314$  ; en 1993, 1994 et 1995 respectivement). Cependant le coefficient de corrélation entre la production de la première récolte en 1993 et l'indice d'ombrage approche le seuil de signification ( $P \leq 0,05$ ).

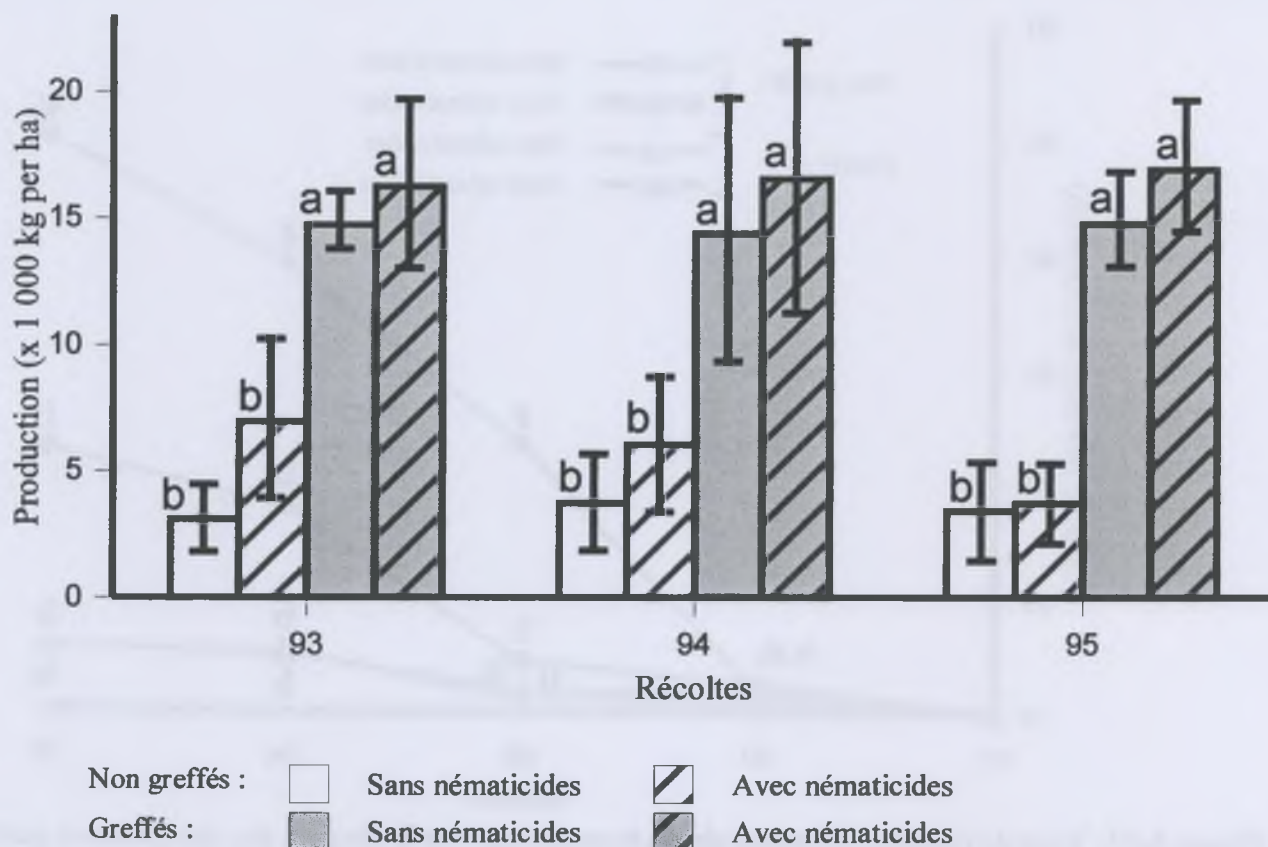




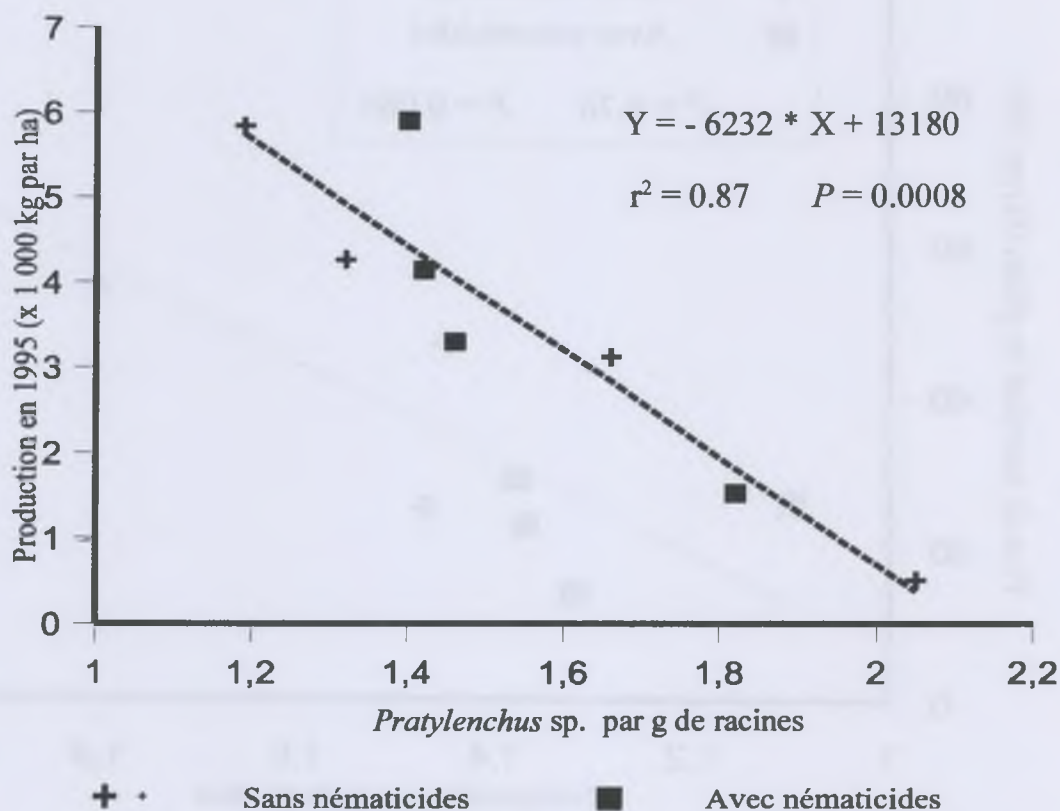
**Figure 3.47.** Taux de mortalité de plants observés au moment de la récolte, un, deux, trois et quatre ans après plantation (1991) dans les parcelles de plants greffés et non greffés de *C. arabica* parasités par *Pratylenchus* avec ou sans nématicides (1 à 2 g de terbufos par plant, deux fois par an). Les données suivies de la même lettre ne sont pas différentes selon le test de Newman & Keuls ( $P \leq 0,05$ ). n.s. : pas de différence significative ( $P \leq 0,05$ ).



**Figure 3.48.** Relation entre la densité de populations initiale de *Pratylenchus* en 1992 (moyenne des effectifs de nématodes par g de racines transformés en  $\log[x+1]$ ) et le taux de mortalité de plants non greffés de *C. arabica*, avec ou sans nématicides (1 à 2 g de terbufos par plant, deux fois par an).



**Figure 3.49.** Production de café cerise des parcelles de plants greffés ou non greffés de *C. arabica* parasité par *Pratylenchus*, avec ou sans traitements nématocides ( 1 à 2 g d terbufos par plant, deux fois par an), deux, trois et quatre ans après plantation ( 1991). Les tirets sur les barres représentent leur écart type. Les valeurs représentées par des barres avec la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman & Keuls ( $P \leq 0,05$ ).



**Figure 3.50.** Relation entre la densité de populations moyenne de *Pratylenchus* (moyenne des effectifs de nématodes par g de racines de 1992 à 1995, transformés en log [x+1]) et la production de cerises de café à la troisième récolte (1995) dans les parcelles de plants non greffés de *C. arabica*, avec ou sans traitements nématocides (1 à 2 g de terbufos par plant, deux fois par an).

La production moyenne des parcelles de plants greffés est approximativement de 15 000 kg/ha pour les trois récoltes observées. Celle-ci est 250% supérieure à la production moyenne des parcelles de plants non greffés pour la même période (figure 3.49). La production des parcelles de plants greffés n'est pas corrélée ( $P \leq 0,05$ ) avec la densité de populations moyennes de *Pratylenchus* calculée jusqu'à l'année de récolte ( $r^2 = 0,45$  et  $P = 0,068$  ;  $r^2 = 0,45$  et  $P = 0,613$  ;  $r^2 = 0,00$  et  $P = 0,915$  ; en 1993, 1994 et 1995, respectivement )

Les trois parcelles de plants non greffés, les moins infestées, ont une densité de populations moyenne de *Pratylenchus* similaire à celle des trois parcelles de plants greffés les plus infestées (approximativement 25 nématodes par gramme de racines). Cependant la production de 1995 des trois parcelles de plants greffés est significativement supérieure ( $P = 0,017$ ) à celle des trois parcelles de plants non greffés : 16 000 kg/ha contre 5 300 kg/ha. Dans ces mêmes parcelles, le taux de mortalité de plants moyen est de 6% pour les parcelles de plants greffés contre 32% pour les parcelles de plants non greffés.

### **3.2.2. Discussion**

Les fortes densités de populations de *Pratylenchus* observées dans les racines des plants non greffés conduisent à un important phénomène de die-back et d'importantes pertes de récolte attestant de l'importante capacité de ce nématode à produire des dégâts sur *C. arabica*. Le taux de mortalité des plants non greffés reste faible durant la première année de plantation même dans les parcelles montrant les niveaux les plus élevées d'infestation de nématodes (figure 3.47). Le taux de mortalité de ces plants augmente ensuite très rapidement. Dans les parcelles de plants non greffés les plus infestées, le taux de mortalité de plants atteint 75% après la troisième récolte. Ces résultats montrent que les conséquences économiques peuvent être considérables dans ces conditions, à cause des pertes de récolte et des coûts de replantation qui sont élevés pour une culture pérenne comme celle des caféiers. Le taux de mortalité de plants observé à la fin de l'étude (durant l'année 1995) est fortement corrélé avec la densité de populations initiale de *Pratylenchus* (de l'année 1992) (figure 3.48). On en déduit que les densités de populations initiales durant les premières étapes de croissance de la plante représentent un facteur critique pour le développement de celle-ci par la suite. Concernant la production des parcelles de plants non greffés, la forte



dépendance linéaire entre la troisième récolte et la densité de populations moyenne de *Pratylenchus* démontre également la forte capacité de cette population de *Pratylenchus* à causer des dégâts sur *C. arabica* (figure 3.50). Les parcelles de plants non greffés les plus infestées produisent vingt fois moins que les parcelles les moins infestées. Ce sont les premiers résultats connus en Amérique Centrale sur l'évaluation de la capacité d'une population naturelle de *Pratylenchus* à causer des dégâts sur *C. arabica* au champ.

En revanche, cette population de *Pratylenchus* semble avoir une faible capacité parasitaire sur plants greffés. Les densités de populations de *Pratylenchus* dans les parcelles de plants greffés sont constamment inférieures à celles observées dans les parcelles de plants non greffés. Ces résultats indiquent l'existence de facteurs de résistance partielle chez *C. canephora* à cette population de *Pratylenchus* (tableau 3.17). L'existence de résistance partielle à *P. coffeae* a été observée en Inde chez une descendance non clonée de *C. canephora* cv. Robusta (Coffee Board Dept., 1971). Deux clones de *C. canephora* cv. Robusta ont montré un fort niveau de résistance à *P. coffeae* en Indonésie (Est de Java) (Toruan-Mathius *et al.*, 1995). *P. coffeae* montre sur une lignée de *C. canephora* cv. Robusta une dynamique de pénétration plus lente que sur *C. arabica* (Kumar, 1982). Ces observations appuient donc les résultats obtenus au champ au cours de cette étude, démontrant que le greffage sur *C. canephora* permet une lutte efficace contre les populations de *Pratylenchus*.

Les densités de populations de *Pratylenchus* n'influent pas sur les taux de mortalité des plants greffés qui de toute façon se maintiennent à des niveaux très bas ( $\leq 15\%$ ) dans toutes les parcelles (figure 3.47). Elles n'influent pas non plus sur la production des parcelles de plants greffés. La gamme de densités de populations de nématodes observées dans les parcelles de plants greffés, large mais inférieure à celle des densités observées dans les parcelles de plants non greffés, semble donc se situer en deçà du seuil de tolérance de ces plants greffés tel qu'il est défini par Seinhorst (1965, 1998). Il s'agit pour ce dernier de la valeur au delà de laquelle la densité de population du nématode induit des dommages à la plante parasitée. En conséquence, il peut être déduit de ces résultats que, dans les conditions de l'expérience, la production des parcelles de plants greffés est proche de la productivité de ces plants en absence de nématodes.

Durant la troisième récolte, toutes les parcelles de plants greffés produisent en moyenne trois fois plus que la plus productive des parcelles de plants non greffés. Des différences de

tolérance pourraient être impliquées mais la productivité des plants non greffés en absence de nématodes dans les conditions de l'expérimentation n'est pas connue. On ne peut donc pas conclure sur l'existence au champ d'une plus grande tolérance des plants greffés aux attaques de *Pratylenchus* (voir chapitre 1. § 2.8 ; Bos & Parlevliet, 1995) ou bien sur l'effet positif du porte-greffe *C. canephora* sur la productivité des plants de *C. arabica*. Il est possible que ces deux effets influent conjointement sur la production observée mais la contribution relative de chacun de ces deux paramètres reste à déterminer.

Que les plants soient greffés ou non , les traitements nématicides permettent une réduction significative des densités de populations de *Pratylenchus* uniquement durant la première année d'échantillonnage (année 1992), avant que les plants ne commencent à produire. Ces traitements n'ont plus d'influence sur les populations de nématodes par la suite, même lorsque la dose est augmentée à 2 g par plant, à la fin de la troisième année de plantation. Cependant, la réduction significative par les traitements nématicides des densités de populations initiales de *Pratylenchus* en 1992 entraîne d'une part à un ralentissement du processus de die-back observé sur les plants non greffés et d'autre part une diminution significative du taux de mortalité de plants jusqu'à la fin de l'étude. Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse déjà mentionnée selon laquelle les infestations précoces de *Pratylenchus* durant les premières étapes de croissance des plants est déterminante pour la capacité de développement des plants par la suite. Malgré cet effet positif, les traitements nématicides ne permettent pas d'augmenter significativement la production des parcelles de plants non greffés. Seule une tendance non significative d'augmentation de la production durant la première récolte est observée dans les parcelles traitées en comparaison avec celles qui ne le sont pas (figure 3.49). Cette tendance s'amenuise ensuite au cours du temps. Cette différence de réponse des plants aux traitements nématicides, sur le plan de la mortalité et de la production, peut être expliquée par le fait que dans les parcelles où un taux de mortalité élevé est observé, la diminution du nombre de plants est compensée par l'augmentation de la productivité des plants restants. Cette relation entre production par unité de surface et la densité de plantation a largement été décrite par divers auteurs ( Browning & Fisher, 1976 ; Kuguru *et al.*, 1977). Le mode agrégatif de répartition spatiale des nématodes dans les parcelles de caféiers ou d'autres cultures (Sarah & Perrier, 1988 ; Sarah, 1991 ; Cilas *et al.*, 1992) rend d'autant plus fréquente



ce genre d'observations. La dose de terbufos appliquée dans cette expérimentation est en accord avec les recommandations de l'Association Nationale du Café au Guatemala (ANACAFE, 1998). Dans les conditions de l'étude, cette dose du nématicide apparaît clairement insuffisante pour permettre une protection durable des plants non greffés sensibles à *Pratylenchus*. En revanche, une augmentation de la dose ou de la fréquence d'application du nématicide impliquerait un accroissement des coûts de production peut-être incompatible avec les contraintes économiques de production et aurait un impact négatif considérable sur l'environnement. Pour les plants greffés, partiellement résistants, les traitements nématicides ne montrent pas d'effet significatif ni sur leur taux de mortalité ni sur leur production (figures 3.47 et 3.49). Cela est probablement dû au fait que, comme cela a déjà été mentionné, les densités de nématodes observées dans les racines de ces plants greffés sont en deçà de leur seuil de tolérance.

L'ombrage a des effets différents sur les caféiers et les populations de *Pratylenchus*, selon que les plants sont ou ne sont pas greffés. L'ombrage semble augmenter la tolérance des plants non greffés aux attaques de *Pratylenchus* durant leur phase initiale de croissance puisque l'ombrage permet de réduire le taux de mortalité de ces plants durant la première année de production. Ces résultats sont en accord avec les observations de Sturdy (1935) et de Montoya *et al.*, (1961), qui ont montré que chez les caféiers le die-back augmente avec l'intensité lumineuse en relation avec leur physiologie adaptée au milieu de sous-bois (voir chapitre 1, § 1.5). L'ombrage limite également le stress hydrique des caféiers durant la période sèche en limitant les températures excessives et les pertes majeures d'hygrométrie (Willson, 1985 ; Wrigley, 1988; Beer *et al.*, 1998). Cet effet de l'ombrage a pu être d'autant plus important sur les plants non greffés que leur système racinaire était endommagé par les attaques de *Pratylenchus*. Il est démontré en effet que la sensibilité (*sensu* Bos & Parlevliet, 1995 ; voir chapitre 1 § 2.8 ) des cultures à la sécheresse est considérablement augmentée lorsque ces dernières sont fortement infestées par *Meloidogyne* spp. (O'Bannon & Reynolds, 1965). Des études menées sur *Solanum tuberosum* ont montré que le parasitisme de cette plante par *P. penetrans* entraîne une réduction importante de la conductivité de l'eau dans les racine (Wilcox-Lee & Loria, 1987). Il est possible par la suite, que l'effet négatif des attaques de *Pratylenchus* surpasse et masque l'effet bénéfique de l'ombrage qui, en conséquence, ne montre plus d'influence significative sur les taux de mortalité finaux observés pour les plants non greffés sensibles aux nématodes.



Sur plants greffés, l'ombrage montre un effet antagoniste sur les densités de populations de nématodes (figure 3.46). Ces résultats peuvent être liés à la tendance pour les plants greffés à produire plus lorsque l'indice d'ombrage de la parcelle est plus élevé. Cela est en accord avec l'effet négatif bien connu de l'ombrage sur l'initiation florale et donc la production des caféiers lorsque les conditions de fertilité du sol sont suffisamment bonnes (Cannell, 1985 et Wrigley, 1988). L'ombrage pourrait donc favoriser l'expression des facteurs de résistance partielle aux *Pratylenchus* du fait de l'influence qu'il a sur la charge en fruits des caféiers et par suite sur leur état trophique. Il a été montré que des déficits nutritionnels chez *Camelia sinensis* et chez des porte-greffes *Prunus avium* réduisent leurs niveaux de résistance partielle à *P. loosi* (Gnanapragassam, 1982) et à *P. penetrans* (Melakeberhan *et al.*, 1997), respectivement. D'une façon générale, l'expression des facteurs de résistances partielles dont le déterminisme est polygénique (Nelson , 1978 ; Parlevliet, 1979) est très susceptible d'être influencée par l'environnement. Ces hypothèses sur les effets multiples de l'ombrage doivent être confirmées. Ces études peuvent avoir des retombées importantes car l'usage des arbres d'ombrage dans les caféières revêt par ailleurs un intérêt agronomique et socio-économique important (voir chapitre Introduction. § 1.5.2) pour des pays comme le Guatemala ou le Salvador ainsi qu'un intérêt écologique également important.

En conclusion, *C. arabica* apparaît très sensible et peu tolérant ("sensible" et "susceptible" selon la terminologie anglophone) *sensu* Bos & Parlevliet (1995) à la population présente de *Pratylenchus*. La lutte contre ce parasite ne peut être assurée par de seuls traitements nématicides. La pratique agronomique de culture de *C. arabica* de pied franc sous ombrage ne permet pas l'acquisition d'une tolérance suffisante de cette culture aux attaques de *Pratylenchus*. Comme dans le cas des études précédentes réalisées avec le cultivar Catuai, les présents résultats observés sur le cultivar Caturra peuvent être généralisés à la plupart des cultivars de *C. arabica* actuellement exploités parce que tous issus d'une base génétique étroite (voir chapitre 1 § 1.6.2). La pratique du greffage sur *C. canephora* apparaît donc comme un moyen nécessaire pour lutter efficacement contre les populations de *Pratylenchus* au Guatemala. Des recommandations sur l'usage de porte-greffes *C. canephora* pour lutter contre *P. coffeae* sur culture de *C. arabica* ont déjà été faites de façon empirique au Guatemala par Schieber *et al.* (1966) et Reyna (1968). Des

recommandations similaires ont également été faites en Indonésie par Palanichamy (1973). Les résultats de cette étude constituent la première démonstration en milieu réel de l'efficacité du greffage sur *C. canephora* pour lutter contre *Pratylenchus* spp. en Amérique Centrale. Par ailleurs, il existe une importante variabilité génétique chez *C. canephora* (Leroy, 1993). De plus, une ample gamme de niveaux de résistance à *P. coffeae* a été observée en Indonésie entre les différents clones de *C. canephora*, dont certains se sont révélés très sensibles à ce parasite (Toruan-Mathius, 1995). Il apparaît donc important d'inclure les facteurs de résistance partielle aux *Pratylenchus* spp. dans les programmes actuels de sélection de *Coffea* spp. principalement orientés vers les résistance aux *Meloidogyne* spp. Il devra alors être tenu compte de la diversité du complexe parasitaire comme nous venons de le voir dans la partie précédente. Les traitements nématicides n'apparaissent pas pertinents pour augmenter l'efficacité de lutte contre *Pratylenchus* sp. sur plants greffés, dans les conditions de l'étude. La prise de décision d'appliquer ou non des nématicides sur plants greffés doit tenir compte des conditions locales. Tout d'abord, la connaissance de l'espèce ou des espèces présentes est nécessaire d'où la nécessité de connaître la répartition géographique des espèces et/ou biotypes de *Pratylenchus* spp. parasitant les caféiers et l'élaboration d'outils rapides d'identification. Les niveaux de populations présents dans la plantation à renouveler doivent également être considérés et contribuer à la prise de décision. Enfin, des études complémentaires devraient permettre de définir l'importance du rôle d'un système de culture sous ombrage sur l'expression globale des facteurs de résistance à *Pratylenchus* spp. en tant que régulateur climatique et facteur améliorant la fertilité des sols en particulier dans le cas des sols d'origine volcanique fréquents dans les zones de culture de *C. arabica* en Amérique Centrale.

## Chapitre 4 : conclusion générale et perspectives



***Sur la diversité morphologique et biologique intra- et/ou interspécifique des isolats étudiés :***

L'étude menée sur la caractérisation d'isolats de *Pratylenchus* a révélé deux niveaux de diversité (tableau 4.1).

Le premier niveau a été mis en évidence à la fois par des caractères morphologiques et biologiques. Les observations au microscope électronique à balayage ont permis de séparer les quatre isolats étudiés en deux groupes, d'après la configuration du premier anneau céphalique des femelles mais aussi des mâles. Selon la nomenclature de Corbett & Clark (1983), basée uniquement sur la configuration du premier anneau céphalique des femelles, les isolats Chitalon et Chamtaca appartiennent au groupe I et les isolats Moca et Buena Vista appartiennent au groupe II. Il apparaît de plus, en accord avec l'existence de ces deux morphogroupes, deux phénotypes majeurs pour les queues des femelles. Les femelles des isolats Chitalon et Chamtaca présentent des queues de forme plutôt cylindrique à extrémité distale tronquée ou largement arrondie tandis que les femelles des isolats Moca et Buena Vista présentent des queues de forme plutôt conoïde à extrémité distale pointue ou finement arrondie. La variabilité de ce caractère oblige cependant à beaucoup de prudence quant à l'interprétation de ces différences "moyennes" observées entre isolats. Certaines données biologiques ont permis de fortifier la dichotomie constatée pour les isolats de l'étude à partir de la configuration du premier anneau céphalique. Les isolats Chitalon et Chamtaca appartenant tout deux au groupe I de Corbett & Clark (1983) montrent une même capacité reproductive et un optimum thermique similaire ou proche compris entre 27°C et 30°C, en élevage monoxénique sur rondelles de carottes *in vitro*. L'isolat Moca appartenant au groupe II de Corbett & Clark (1983) se différencie également des deux autres isolats en élevage monoxénique par une capacité reproductive beaucoup plus faible et un optimum thermique inférieur compris entre 24°C et 27°C. L'isolat Buena Vista qui n'a pas pu être inclus dans les études de comportement biologique a montré dans une autre étude réalisée dans les mêmes conditions d'élevage monoxénique un optimum thermique apparemment similaire entre 24°C et 27°C et une capacité parasitaire également très inférieure à celle observée pour l'isolat Chitalon (Hervé, 1997).

ISOLATS

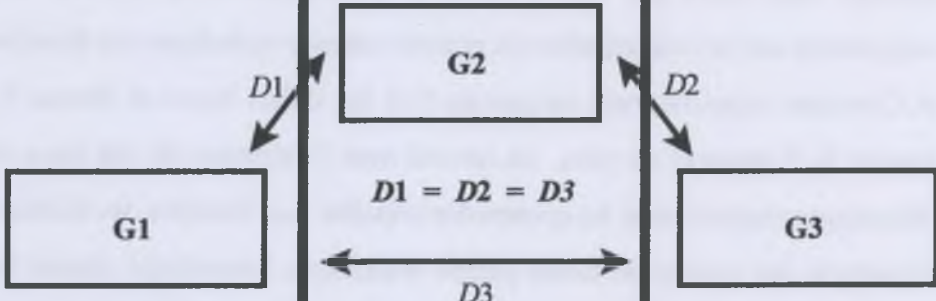
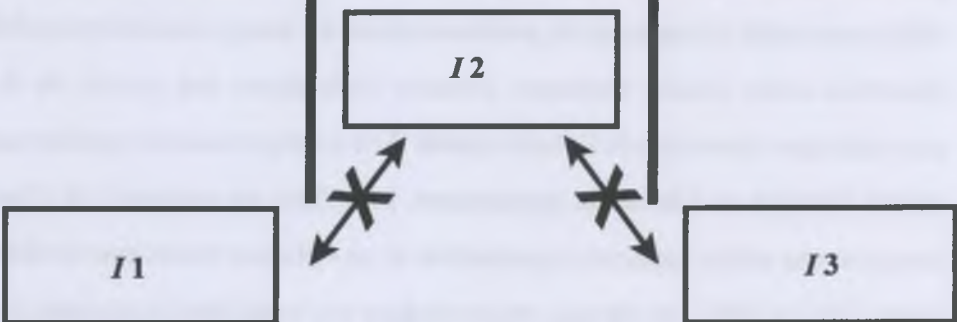
BUENA VISTA	MOCA	CHITALON	CHAMTACA
Observations au microscope électronique à balayage			
<b>Groupe II</b> de Corbett & Clark (1983) selon le 1 <sup>er</sup> anneau céphalique des femelles. (configuration du 1 <sup>er</sup> anneau céphalique des mâles différente de celle des femelles) = <i>P. gutierrzi</i> ; <i>P. pseudocoffeae</i>  Phénotype majeur des queues de femelles conoïde à extrémité distale pointue ou finement arrondie MAIS grande variabilité		<b>Groupe I</b> de Corbett & Clark (1983) selon le 1 <sup>er</sup> anneau céphalique des femelles. (configuration du 1 <sup>er</sup> anneau céphalique des mâles semble identique à celui des femelles) = <i>P. coffeae</i> ; <i>P. loosi</i>  Phénotype majeur des queues de femelles cylindrique à extrémité distale tronquée ou largement arrondie MAIS grande variabilité	
Hervé (1996)	Capacité reproductive sur rondelles de carottes <i>in vitro</i> :		
faible  Optimum thermique : 24-27°C	faible  Optimum thermique : 24-27°C	forte  Optimum thermique : 27-30°C  = <i>P. coffeae</i>	
Analyse factorielle discriminante sur les caractères morphométriques			
			
Croisements entre isolats (reproduction amphimictique obligatoire)			
			
Capacité parasitaire sur <i>C. arabica</i>			
<b>Intermédiaire :</b>  Dynamique de pénétration intermédiaire  Capacité reproductive intermédiaire		<b>Forte :</b>  Dynamique de pénétration rapide  Capacité reproductive intermédiaire	<b>Faible :</b>  Dynamique de pénétration lente  Capacité reproductive intermédiaire

Tableau 4.1. Tableau synoptique résumant la diversité morphologique et biologique observée entre quatre isolats de *Pratylenchus*.

Un second niveau de diversité, mis en évidence par des paramètres morphométriques et biologiques, a permis de différencier les trois isolats Moca, Chitalon et Chamtaca. L'analyse multivariable de l'ensemble des différents descripteurs morphométriques proposés par Loof (1991) a permis de discriminer les individus en accord avec leur appartenance à chacun des trois isolats. L'interprétation de ces distances phénologiques entre isolats d'un point de vue de taxinomique reste cependant délicate. Dans les conditions homogènes d'élevage de ces études, les différences observées entre isolats pour les descripteurs morphométriques peuvent constituer un indicateur de diversité biologique inter- ou intraspécifique comme cela a été observé entre différents isolats géographiques de *P. vulnus* (Pinochet *et al.*, 1993, 1994 ; Doucet *et al.*, 1996). Les différences morphométriques observées entre isolats dans cette étude ne permettent en aucun cas à elles seules de postuler sur leur statut taxinomique relatif, c'est à dire sur leur appartenance ou non à ces espèces différentes. Le critère d'espèce généralement accepté n'est pas le degré de différence morphologique mais la preuve que deux groupes ne se reproduisent pas entre eux dans la nature (Mayr, 1974 ; Futuyma, 1986 ; Ridley, 1997) selon le concept énoncé par Mayr (1942) : *“Les espèces sont des groupes de populations naturelles interfécondes, isolées du point de vue reproductif des autres groupes équivalents.”* Les isolats de l'étude se reproduisant selon un mode amphimictique obligatoire l'application de ce concept biologique de l'espèce en est d'autant plus facile. De fait, un isolement reproductif a été constaté d'une part entre l'isolat Moca et Chitalon en accord avec la dichotomie mentionnée précédemment et d'autre part entre l'isolat Chitalon et Chamtaca scindant en deux le groupe précédemment constitué par ces deux isolats. L'indice d'isolement reproductif doit cependant encore être précisé. Les mécanismes pré ou postcopulatoires de cet isolement reproductif restent également à identifier.

En relation avec cette différenciation morpho-biologique des isolats Moca, Chitalon et Chamtaca, tous trois ont montré une capacité parasitaire différente sur *C. arabica*. Les isolats Chitalon et Chamtaca, plus particulièrement, présentent des différences très importantes de leur capacité parasitaire le premier se montrant très agressif avec une dynamique de pénétration très rapide et une forte capacité reproductive sur cet hôte tout au contraire de l'isolat Chamtaca. L'isolat Moca présente une capacité parasitaire intermédiaire par rapport aux deux autres isolats. L'isolat Buena Vista n'a pas pu être inclus dans l'étude sur la capacité parasitaire de cet isolat.



Les isolats Chitalon et Chamtaca morphologiquement très proches et montrant des paramètres biologiques similaires (optimum thermique apparemment voisin et une capacité reproductive similaire en élevage monoxénique) apparaissent tout de même isolés sur le plan reproductif avec, de plus, des capacités parasitaires très différentes sur *C. arabica*. Il pourrait donc s'agir d'espèces jumelles (Futuyma, 1986 ; Ridley, 1997) comme le sont dans ce genre, les espèces *P. fallax* et *P. penetrans*, appartenant toutes deux au groupe III de Corbett & Clark (1983) mais isolées sur le plan reproductif (Perry *et al.*, 1980).

Pour l'isolat Moca, son isolement reproductif vis à vis de l'isolat Chitalon semble indiquer que ces deux isolats appartiennent à deux espèces différentes. Par ailleurs, bien que son isolement reproductif vis à vis de l'isolat Chamtaca n'ait pas été vérifié, la différence de configuration du premier anneau céphalique qui semble être un caractère morpho-anatomique de poids important reflétant probablement un niveau évolutif (Corbett & Clark, 1983 ; Trett & Perry, 1985) indique également que l'isolat Moca appartient probablement à une espèce différente de celle de l'isolat Chamtaca.

Pour les mêmes raisons on peut supposer que l'isolat Buena Vista appartienne à une espèce différente de celles des isolats Chitalon et Chamtaca. Une analyse du polymorphisme des isolats Buena Vista et Chitalon par AFLP a d'ailleurs montré un très faible indice de similarité entre ces deux isolats (Hervé, 1997), ce qui va donc dans le sens de l'hypothèse d'appartenance de ces isolats à des taxons différents. En revanche, comme le montre la probable appartenance des isolats Chitalon et Chamtaca à des espèces différentes du fait de leur isolement reproductif, la similitude de configuration du premier anneau et du phénotype majeur des queues de femelles ainsi qu'un même optimum thermique ne suffisent pas pour conclure à une appartenance des isolats Moca et Buena Vista à une même espèce. Des études d'interfécondité devront être réalisées pour vérifier cette hypothèse.

Si les isolats Moca et Buena Vista se révélaient appartenir effectivement à la même espèce, au vu des résultats de l'étude des fluctuations de leurs populations sur leur site respectif, on pourrait conclure que cette espèce est capable de bien se développer sur *C. arabica* sur au moins une large plage de l'amplitude d'altitudes aux quelles est cultivée cette plante dans la plupart des

pays producteurs de café. L'hypothèse d'une large répartition tout au moins en Amérique Centrale du taxon auquel appartient l'isolat Buena Vista et auquel appartiendrait peut-être l'isolat Moca, est confortée par deux études génomiques d'isolats de *Pratylenchus* incluant l'isolat Buena Vista. L'isolat Buena Vista a montré une importante similitude génétique (AFLP) et biologique (optimum thermique et capacité reproductive *in vitro*) avec un autre isolat de *Pratylenchus* prélevé sur *C. arabica* au Salvador (Hervé, 1997). Cet isolat Buena Vista s'est également révélé être génétiquement (séquence D2/D3 de l'ADNr) et morphologiquement (configuration du premier anneau céphalique et morphométrie) proche d'un autre isolat de *Pratylenchus* prélevé sur *C. arabica* au Costa Rica. Sous réserve de confirmer l'appartenance des deux isolats Buena Vista et Moca à la même espèce, cette dernière serait cependant moins favorisée aux basses altitudes et donc moins compétitive que ne le pourraient l'être d'autres espèces plus thermophiles dans ces conditions comme semble l'être *P. coffeae sensu lato*.

Les études engagées devront être enrichies d'autres études complémentaires sur les cycles biologiques mais aussi d'études de diversité génomique (RAPD, AFLP) pour évaluer les distances génétiques entre isolats. Cela contribuera ainsi à une approche phylogénique intégrée - morphologique, anatomique, biologique et génomique - des études taxinomiques de ces populations tel que le préconisent Baldwin & Luc (1995). Au niveau intraspécifique (pathotypes), la relation entre la diversité génétique et certaines caractéristiques biologiques reste cependant difficile à établir comme l'ont montré les études réalisées sur *R. similis* (Fallas *et al.*, 1996).

Cette étude qui constitue une première approche de la diversité des populations de *Pratylenchus* parasitant les caféiers doit être poursuivie de façon plus exhaustive. L'étude de seulement trois isolats de *Pratylenchus* a en effet permis de mettre en évidence des différences biologiques importantes avec la probable existence d'au moins trois taxons différents présentant des capacités parasitaires différentes et occasionnant, pour deux d'entre eux, de très forts dégâts sur caféiers. Il apparaît donc nécessaire de réaliser des prospections représentatives des différentes régions de culture de *C. arabica* en Amérique Centrale afin d'évaluer la diversité globale d'espèces et/ou biotypes de *Pratylenchus* parasitant les caféiers dans cette région. Ces enquêtes permettront d'en définir la répartition géographique en relation avec les facteurs écologiques et agronomiques, en particulier les associations de cultures et les historiques culturels. D'un point

de vue prophylactique, elles permettront d'entreprendre des mesures plus restrictives de transport de matériel végétal entre pays et entre régions productives d'un même pays. Ces données sont également nécessaires dans les choix de méthodes de lutte à mettre en oeuvre.

#### ***Sur le statut taxinomique des isolats :***

L'analyse factorielle discriminante des descripteurs morphométriques n'a permis de rattacher aucun des isolats à une espèce précise selon les paramètres connus des populations topotypes. Cette étude montre les limites de la seule étude morphologique et en particulier morphométrique pour statuer sur la position taxinomique des populations de *Pratylenchus*.

La configuration du premier anneau céphalique des deux isolats Moca et Buena Vista fait exclure leur appartenance à *P. coffeae* et *P. loosi* en contradiction avec les résultats de deux laboratoires de taxinomie identifiant chacun l'isolat Buena Vista comme appartenant à l'une et l'autre des deux espèces citées (Anzueto & Sarah, 1992 ; Al Banna *et al.*, 1997). Ces résultats sont confortés par un optimum thermique (24-27°C) de ces deux isolats supérieur à celui observé pour *P. loosi* (proche de 20°C) et inférieur à celui observé pour *P. coffeae* (27-30°C). De plus des distances génétiques (séquence D2/D3 de l'ADNr) et morphologiques importantes ont été observé entre l'isolat Buena Vista et d'une part différentes populations de *P. coffeae* prélevées sur caféiers à Java (où se trouve le toponyme de *P. coffeae*) et au Brésil et d'autre part une population de *P. loosi* prélevée sur *Camelia sinensis* au Sri Lanka (Duncan *et al.*, 1999). Par ailleurs, la configuration du premier anneau céphalique de type II rapproche les isolats Moca et Buena Vista des deux espèces *P. pseudocoffeae* et *P. gutierrezii*. L'isolat Buena Vista montre cependant une plus grande similitude de ces caractères morphométriques et de la séquence D2/D3 de l'ADNr avec une population prélevée sur *Aster ellioti* en Floride et identifiée comme *P. pseudocoffeae* (Inserra *et al.*, 1998) qu'avec le topotype de *P. gutierrezii* (Duncan *et al.*, 1999).

Concernant les isolats Chitalon et Chamtaca, ceux-ci présentent des similitudes avec *P. coffeae sensu lato* : configuration du premier anneau céphalique (groupe I) ; phénotype majeur des queues de femelles (cylindrique et tronquée ou arrondie) ; optimum thermique compris entre



27°C et 30°C.

Afin de clarifier leur statut taxinomique des isolats de l'étude qui présentent tous un mode de reproduction amphimictique, il apparaît absolument nécessaire de réaliser des études d'interfécondité entre et les populations topotypes d'espèces morphologiquement proches (*P. coffeae*, *P. loosi*, *P. pseudocoffeae*, *P. gutierrezii* et *P. panamaensis*). Toutefois ces études ne pourront se faire sans une préalable et complète caractérisation de ces espèces déjà décrites mais dont la description n'a été pour la plupart que morphologique voire uniquement basée sur des critères peu stables, sans observations au microscope électronique de caractères stables qui semblent avoir un sens évolutif. Par ailleurs, la présence des isolats Buena Vista, Moca et Chitalon sur une aire géographique restreinte (quelques dizaines de km entre Moca et Chitalon et moins de 10 km entre Chitalon et Buena Vista) et appartenant à au moins deux taxons différents montre la nécessité de définir les toponymes avec précision, à l'échelle de la parcelle. On rappellera le cas de la population qui a servi à la redescription de l'espèce *P. coffeae*, prélevée par Sher & Allen (1953) à Java mais pas sur le lieu précis de collecte de Zimmermann (1898). Une étude récente incluant l'observation au microscope électronique à balayage du premier anneau céphalique d'un spécimen de la collection a révélé une configuration de type II donc différente à celle jusqu'alors décrite pour *P. coffeae sensu lato* (Duncan *et al.*, 1999).

La mise en évidence par cette étude de la présence sur caféiers de différents taxons de *Pratylenchus* difficilement différenciables morphologiquement oblige à rechercher de nouveaux outils de diagnose rapides et fiables pour leur identification au niveau spécifique et subs spécifique. L'étude morphologique des isolats a en effet montré ses limites dans la différenciation des phénotypes. Si les observations au microscope électronique à balayage et en particulier de la configuration du premier anneau céphalique apportent des informations précieuses du point de vue taxinomique, elles restent de peu d'intérêt pour la diagnose. Des marqueurs moléculaires spécifiques ont récemment été mis au point pour différentes espèces de *Pratylenchus* et en particulier pour *P. coffeae* et *P. loosi* en utilisant les techniques de PCR-RFLP (Orui, 1996) ou de PCR-séquences ITS (Uehara *et al.*, 1998 et Uehara *et al.*, 1999). Ces outils sont rapides et puissants car ils permettent de travailler sur un seul individu quel que soit son stade de développement. Le développement d'amorces spécifiques permettrait de fournir des outils

précieux pour les études de répartition géographique des espèces et biotypes ainsi que pour les études de bioécologie ou d'expérimentation au champ.

#### ***Sur les stratégies de protection intégrée contre les *Pratylenchus* :***

La symptomatologie radiculaire est beaucoup moins spectaculaire et moins reconnaissable dans le cas des attaques de *Pratylenchus* spp. en comparaison avec celles de *Meloidogyne* spp. D'où une présence de *Pratylenchus* masquée, dans le cas de la présence des deux genres, et/ou non détectée. Il en a souvent résulté de la part des organismes professionnels en Amérique Centrale ou dans d'autres pays producteurs importants comme le Brésil, où la présence de *Pratylenchus* très pathogènes sur caféiers a pourtant récemment été démontrée (Gonçalves, 1995 ; Silva & Inomoto, 2000), une attention moindre pour élaborer des méthodes de lutte efficaces contre *Pratylenchus* et en particulier pour la recherche de résistance. Les résultats de l'étude montrent cependant la forte nocuité de la plupart des populations de *Pratylenchus* étudiées vis à vis de *C. arabica*. Et par conséquent la nécessité d'élaborer des stratégies de lutte efficaces contre ce genre de nématodes.

Les résultats de l'étude confirment la faible efficacité au champ de la lutte chimique telle qu'elle est appliquée actuellement et la difficulté d'élaborer des modalités permettant d'améliorer son efficacité tout en étant compatibles avec les contraintes écologiques et économiques. L'emploi des nématicides devrait donc se restreindre aux pépinières comme mesures préventives afin de limiter la dissémination des nématodes au champ. Des études doivent être engagées pour évaluer des méthodes alternatives au champ qui permettraient de diminuer l'inoculum dans le sol afin de diminuer les pressions parasitaires au moment de la plantation même s'il s'agit de matériel végétal présentant des résistances.

En revanche, le greffage sur *C. canephora* apparaît comme un moyen efficace pour lutter contre les nématodes des lésions. La résistance aux différents espèces ou pathotypes de *Pratylenchus* présents en Amérique Centrale doit être incluse dans les programmes de sélection de *Coffea* spp., qu'il s'agisse de la création de nouveaux cultivars de *C. arabica* tel que les hybrides F1 actuellement en cours de sélection (Bertrand *et al.*, 1999) ou de la sélection de

caféiers diploïdes et en particulier de *C. canephora* pour la création de porte-greffes prenant en compte la grande variabilité génétique observée au sein de ce genre (Leroy, 1993). Le nouveau cultivar porte-greffe Nemaya et l'un des deux clones parents (T 3751[1-2]) montrent des facteurs de résistance importants. La résistance partielle observée sur ce matériel génétique apparaît d'autant plus intéressante qu'elle semble étendue aux différentes espèces ou pathotypes de *Pratylenchus* étudiés ici. Toutefois le niveau de spécificité de ces résistances devra être intégralement évalué par rapport à la diversité biologique qui pourra être mise en évidence au sein du complexe d'espèces de *Pratylenchus* parasitant les caféiers. Ce nouveau cultivar porte-greffe, Nemaya, présentant à la fois des résistances aux différentes espèces de *Meloidogyne* spp. (Bertrand *et al.*, 2000) parasitant les caféiers en Amérique Centrale ainsi qu'aux *Pratylenchus* spp. devrait donc permettre de lutter efficacement contre les peuplements nématologiques souvent complexes en milieu tropical (Luc & Reversat, 1985) et incluant fréquemment ces deux genres phytoparasites, *Meloidogyne* spp. et *Pratylenchus* spp. dans les caféières d'Amérique Centrale.

Les différents facteurs de résistance impliqués dans les différentes étapes du parasitisme devront être élucidés par des approches appropriées (dynamique des relations plante-parasite pré et post-infectieuses, histo- et cytochimie). L'identification de la nature des facteurs de résistance devraient permettre la recherche de marqueurs génétiques ou biochimiques pour l'assistance à la sélection.

Le déterminisme polygénique de ces facteurs de résistance partielle (Nelson, 1978 ; Parlevliet, 1979) a pour conséquence une importante influence du milieu sur ces facteurs mettant en jeu de multiples métabolismes complexes (Rapilly, 1990) tel que celui des polyphénols (Valette *et al.*, 1998). Il en résulte la nécessité de rechercher les conditions agro-écologiques optimales pour l'expression de ces facteurs de résistance. L'ombrage, comme semble le montrer l'une des études au champ, ainsi que la fertilité du sol ou les régimes hydriques du sol pourraient jouer un rôle important dans ce sens.

Les connaissances sur les fluctuations de populations de *Pratylenchus* en milieu réel sont importantes dans la mise en place d'une gestion intégrée de ces parasites en permettant



l'identification des principaux facteurs régulateurs de leurs populations. Celle ci ne sera possible que si les études de fluctuations de populations de nématodes en plantations sont accompagnées d'un suivi complet de la phénologie de la plante à travers des indicateurs fiables et précis de la croissance racinaire et de l'allocation des éléments nutritifs en particulier carbonés dans ces organes en relation avec les facteurs abiotiques : bilan hydrique et température du sol ; et biotiques : pathogènes secondaires mais aussi autres nématodes parasitant les caféiers et susceptibles de rentrer en compétition. La mise en évidence de taxons différents présentant des paramètres biologiques différents avec en particulier des exigences thermiques différentes et des capacités parasitaires différentes sur *C. arabica* montre la nécessité de réaliser ces études de fluctuations de populations sur divers sites présentant des conditions écologiques variées et où l'on aura mis en évidence la présence des taxons auxquels appartiennent l'isolat Chamtaca mais surtout Chitalon dont la nocuité sur *C. arabica* s'est révélée très forte.

## Références bibliographiques

- ABRAHAMSON, W.G., MC CREA, A.J., WHITWELL, A.J., VERNIERI, L.A.** 1991. The role of phenolic in goldenrod ball gall resistance and formation. *Biochemical Systematic and Ecology*, vol. 19, n. 8, p. 615-622.
- ABREGO, L., HOLDEMAN, Q.L.** 1961. *Nematodos del café en El Salvador (Informe de progresos)*. Boletín informativo Suplemento. Santa Tecla, El Salvador, C.A.: Instituto Salvadoreño de Investigaciones del Café.
- ACEDO, J.R., ROHDE, R.A.** 1971. Histochemical root pathology of *Brassica oleracea capitata* L. infected by *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Filipjev and Schuurmans Stekhoven (Nematoda: Tylenchidae). *Journal of Nematology*, vol. 3, n. 1, p. 62-68.
- ACOSTA, N., MALEK, R.B.** 1978. Influence of temperature on population development of eight species of *Pratylenchus* on soybean. *Journal of Nematology*, vol. 11, n. 3, p. 229-232.
- ACOSTA, N.** 1982. Influence of inoculum level and temperature on pathogenicity and population development of lesion nematodes on soybean. *Nematropica*, vol. 12, n. 1, p. 189-197.
- AHMED, J., SRINIVASAN, C.S., VISHVESHWARA, S.** 1982. Shoot and root characters in some *Coffea* species. *Turrialba*, vol. 32, n. 2, p. 103-109.
- AL-BANNA, L., WILLIAMSON, V., GARDNER, S.L.** 1997. Phylogenic analysis of nematodes of the genus *Pratylenchus* using nuclear 26S rDNA. *Molecular phylogenetics and evolution*, vol. 7, n. 1, p. 94-102.
- ALVARADO, J.A.** 1935. *Tratado de caficultura practica, Guatemala, C.A.* Guatemala, C.A.: Tipografia Nacional.
- ALVARADO, J.** 1997. *Diagnostico sobre el parasitismo de los nematodos y cochinillas de la raiz en la zona cafetalera del Suroccidente de Guatemala*. Tesis de Ingeniero Agronomo. Quetzaltenango, Guatemala: Universidad de San Carlos. 60 p.
- ANACAFE.** 1998. *Manual de Caficultura*. Guatemala, C.A.: ANACAFE. 318 p.
- ANONYME.** 1984. *Perfil ambiental de la Republica de Guatemala*. Guatemala: US.AID/ROCAP Instituto de Ciencias Ambientales y Tecnologia Agricola, Universidad Rafael Landivar. 249 p.
- ANTHONY, F., ASTORGA, C., BERTHAUD, J.** 1999. Los recursos genéticos: las bases de una solución genética. In: B. BERTRAND and B. RAPIDEL. *Desafíos de la caficultura en Centroamerica*. San Jose, C. R.: ICCA-PROMECAFE, p. 369-406.
- ANZUETO, J., SARAH, J.L., ESKES, A., DECAZY, B.** 1991. Recherche de la résistance à *Meloidogyne* sp. dans une collection de *Coffea arabica*. In: 14ème colloque scientifique international sur le café, 14-19 juillet 1991, San Francisco, California, USA. p. 534-543.
- ANZUETO, F., SARAH, J.L.** 1992. Etude de la relation hôte-parasite entre une population de *Pratylenchus loosi* du Guatemala et *Coffea arabica*. In: XXIV annual meeting of the Organization of Nematologists of Tropical America, 27 avril - 1 mai 1992, Tegui, Espagne. 14 p.
- ANZUETO, F.** 1993. *Etude de la résistance du caféier (Coffea sp.) à Meloidogyne sp. et Pratylenchus sp.* Thèse de doctorat. Rennes, France: ENSAR. 123 p.
- ANZUETO, F., BERTRAND, B., PEÑA, M., MARBAN-MENDOZA, N., VILLAIN, L.** 1995. Desarrollo de una variedad porta-injerto resistente a los principales nematodos de América Central. In: XVII Simposio sobre la Caficultura Latinoamericana, 23-27/10/1995, San Salvador, El Salvador. 7 p.
- ARPIN, P., G., A.J., PONGE, J.F.** 1988. Morphometric variability in *Clarkus papillatus* (Bastian, 1865) Jairajpuri, 1970 in relation to huus type and season. *Revue de Nématologie*, vol. 11, n. 2, p. 149-158.
- AVELINO, J., MULLER, R., ESKES, A., SANTACREO, R., HOLGUIN, F.** 1999. La roya anaranjada del café: mito y realidad. In: B. Bertrand and B. Rapidel. *Desafíos de la caficultura en Centroamerica*. San Jose, C. R.: ICCA-PROMECAFE, p. 193-242.



- AYALA, A.** 1976. State of knowledge of *Meloidogyne* in Puerto Rico. IN: Proceedings of the Regional Conference of the International Meloidogyne project. Regional I, Panamá. p. 93-95.
- BALDWIN, J.G., LUC, M.** 1995. Current problems in taxonomy. *Nematologica*, vol. 41, p. 357-358.
- BALLY, W., REYDON, G.A.** 1931. *De tegenwoordige stand van het Vraagstuk van de Wortelaatjes in de Koffiecultur*. Archf Voor de Koffiecultur, Indonesie, p. 23-216.
- BARBAULT, R.** 1987. Peut-on encore parler de sélection-*r* et de sélection-*K*? *Acta Oecologica*, vol. 8, n. 1, p. 63-70.
- BARKER, K.R.** 1993. Resistance/Tolerance and related concepts/terminology in plant nematology. *Plant Disease*, vol. 77, n. 2, p. 111-113.
- BAUJARD, P., PARISELLE, A.** 1987. Fabrication de microtamis et préparation des nématodes pour l'observation au microscope électronique à balayage. *Revue de Nématologie*, vol. 10, n. 4, p. 477-481.
- BAUJARD, P., MOUNPORT, D., MARTINY, B.** 1990. Etude au microscope électronique à balayage de quatre espèces du genre *Pratylenchus* Filip'ev, 1936 (Nemata : Pratylenchidae). *Revue de Nématologie*, vol. 13, n. 2, p. 203-210.
- BEAUMONT, J.H., FUKUNAGA, E.T.** 1958. Factors affecting the growth and yield of coffee in Kona, Hawaii. *Hawaii Experimental Station Bulletin*, vol. 13, p. 123-135.
- BEER, J., MUSCHLER, R., KASS, D., SOMARRIBA, E.** 1998. Shade management in coffee and cacao plantations. *Agroforestry Systems*, vol. 38, p. 139-164.
- BERTHAUD, J.** 1980. L'incompatibilité chez *Coffea canephora* : méthode de test et déterminisme génétique. *Café Cacaco Thé*, vol. 24, p. 267-274.
- BERTHAUD, J.** 1986. *Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes*. Paris, France: ORSTOM. 372 pp.
- BERTRAND, B., AGUILAR, G., SANTACREO, R., ANTHONY, F., ETIENNE, H., ESKES, A., CHARRIER, A.** 1998a. Comportement d'hybrides F1 de *Coffea arabica* pour la vigueur, la production et la fertilité en Amérique Centrale. In: ASIC. XVIIe colloque scientifique international sur le café, 20-25 juillet 1997, Nairobi, Kenya., p. 415-423.
- BERTRAND, B., AGUILAR, G., SANTACREO, R., ANZUETO, F.** 1999. El mejoramiento genético en América Central. In: B. Bertrand and B. Rapidel. *Desafios de la caficultura en Centroamerica*. San Jose, C. R.: ICCA-PROMECAFE, p. 407-456.
- BERTRAND, B., ANZUETO, F., PEÑA, M., ANTHONY, F., ESKES, A.B., AGUILAR, G., BOMPARD, E., RAFINON, A.** 1997. Comportement agronomique et résistance aux principaux déprédateurs des lignées de Sarchimors et Catimors au Costa Rica. *Plante, Recherche, Développement*, vol. 4, n. 4, p. 312-321.
- BERTRAND, B., CILAS, C., HERVE, G., ANTHONY, F., ETIENNE, H., VILLAIN, L.** 1998b. Relations entre les populations de deux espèces de nématodes, *Meloidogyne exigua* et *Pratylenchus* sp., dans les racines de *Coffea arabica* au Costa Rica. *Plante, Recherche, Développement*, vol. 5, n. 4, p. 279-286.
- BERTRAND, B., PEÑA DURAN, M., ANZUETO, F., CILAS, C., ETIENNE, H., ANTHONY, F., ESKES, A.B.** 2000. Genetic study of *Coffea canephora* coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita* nematodes in Guatemala and *Meloidogyne* sp. nematodes in El Salvador for selection of rootstock varieties in Central America. *Euphytica*, vol. 113, p. 79-86.
- BIRD, A.** 1959. The attractiveness of roots to the plant parasitic nematodes *Meloidogyne javanica* and *M. hapla*. *Nematologica*, vol. 4, p. 322-335.

- BIRD, A.** 1960. Additional notes on the attractiveness of roots to plant parasitic nematodes. *Nematologica*, vol. 5, p. 217.
- BIRD, A.** 1962. Orientation of the larvae of *Meloidogyne javanica* relative to roots. *Nematologica*, vol. 8, p. 275-287.
- BOAG, B., ALPHEY, J.W.** 1988. Influence of interspecific competition on the population dynamics of migratory plant-parasitic nematodes with r and K survival strategies. *Revue de Nématologie*, vol. 11, n. 3, p. 321-326.
- BOLIVAR, G.B., SALAZAR, L., ECHEVERRI, J.H.** 1984. Estudio sobre la distribución vertical y horizontal de los nematodos fitoparásitos asociados al café (*Coffea arabica*) cv. Caturra en la zona de Turrialba, Costa Rica. In : III Seminario Nacional de Investigaciones en café, 16-17 mai 1984, San Pedro Sula, Honduras.
- BORNEMIZA, E., COLLINET, J., SEGURA, A.** 1999. Los suelos cafetaleros de América Central y su fertilización. In: B. Bertrand and B. Rapidel. *Desafíos de la caficultura en Centroamérica*. San José, C. R.: ICCA-PROMECAFE, p. 407-456.
- BOS, L., PARLEVLIET, J.E.** 1995. Concept and terminology on plant/pest relationships : Toward Consensus in Plant Pathology and Crop Protection. *Annual Review of Phytopathology*, vol. 33, n. 2, p. 69-102.
- BOURBONNAIS, R., TERRAZA, M.** 1998. *Analyse des séries temporelles en économie*. Presses Universitaires de France. 274 p.
- BRIDGE, J.** 1984. *Coffee nematode survey of Tanzania. Report on Visit to Examine Plant Parasitic nematodes of Coffee in Tanzania*. Commonwealth Institute of Parasitology.
- BRIDGE, J., FOGAIN, R., SPEIJER, P.** 1997. *Parasites et ravageurs des Musa: fiche technique n°2. Les nématodes parasites des bananiers. P. coffeae (Zimmermann, 1898) Filip. & Schu. Stek., 1941; P. goodeyi Sher & Allen, 1953., 4p.* Parc Scientifique Agropolis II, Montpellier, France: INIBAP.p.
- BROOKS, T.L., PERRY, V.G.** 1967. Pathogenicity of *Pratylenchus brachyurus* to *Citrus*. *Plant Disease Reporter*, vol. 51, n. 7, p. 569-573.
- BROWN, D.J.F.** 1981. The effect of operator and measuring system error. *Revue de Nématologie*, vol. 4, n. 1, p. 169-171.
- BROWNING, G., FISHER, N.M.** 1976. High density coffee : yield results for the first cycle from systematic plant spacing designs. *Kenya Coffee*, vol. 41, p. 209-217.
- CAMPOS, V.P., LIMA, R.D.** 1986. Nematoides parasitas do cafeeiro. In: E. Malavolta, M. Rocha and T. Yamada. *Cultura do cafeeiro, fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba, SP. Brazil: Associação para Pesquisas da Potassa e do Fosfato, p. 379-389.
- CAMPOS, V.P., SIVAPALAN, P., GNANAPRAGASAM, N.C.** 1990. Nematode parasites of coffee, cocoa and tea. In : M. Luc, R. A. Sikora and J. Bridge. *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford, Royaume Uni: C.A.B. International, p. 387-430.
- CANNELL, M.R., HUXLEY, P.A.** 1969. Seasonal differences in the pattern of assimilate movement in branches of *Coffea arabica* L. *Annual Applied of Biology*, vol. 64, p. 345-357.
- CANNELL, M.G.R.** 1971. Seasonal patterns of growth and developpement of Arabica coffee in Kenya. *Kenya Coffee*, vol. 36, n. 422, p. 68-74.
- CANNELL, M.G.R., KIMEU, B.S.** 1971. Uptake and distribution of macro-nutrients in trees of *Coffea arabica* L. in Kenya as affected by seasonal climatic differences and the presence of fruits. *Annual Applied of Biology*, vol. 68, p. 213-230.
- CANNELL, M.G.R.** 1972. Photoperiodic response of mature trees of Arabica coffee. *Turrialba*, vol. 22, n. 2, p. 198-206.



- CANNELL, M.G.R.** 1973. Effects of irrigation, mulch and N-fertilizers, on yield components of Arabica coffee in Kenya. *Experimental Agriculture*, vol. 9, p. 225-232.
- CANNELL, M.G.R.** 1975. Crop physiological aspects of coffee bean yield : a review. *Journal of Coffee Research*, vol. 5, p. 7-20.
- CANNELL, M.G.R.** 1985. Physiology of the coffee crop. In: M. N. Clifford and K. C. Willson. *Coffee : botany, biochemistry and production of beans and beverage*. New York: Croom Helm, p. 108-134.
- CARELLI, M.L.C., LOPES, C.R., MONACO, L.C.** 1974. Chlorogenic acid content in species of *Coffea* and selections of *C. arabica*. *Turrialba*, vol. 24, p. 398-401.
- CARVALHO, A., MEDINA FILHO, H.P., FAZUOLI, L.C., GUERREIRO FILHO, O., LIMA, M.M.A.** 1991. Aspectos genéticos do cafeeiro. *Revista Brasileira de Genética*, vol. 14, n. 1, p. 135-183.
- CASTILLO, J.Z., LOPEZ, A.R.** 1966. Nota sobre el efecto de la luz en la floración del cafeto. *Cenicafe*, vol. 17, p. 51-60.
- CASTILLO, P., TRAPERO-CASAS, L., JIMENEZ-DIAZ, R.M.** 1995. Effect of time, temperature and inoculum density on reproduction of *Pratylenchus thornei* in carrot disk cultures. *Journal of Nematology*, vol. 27, n. 1, p. 120-124.
- CAVENESE, F.E.** 1964. *A glossary of nematological terms*. Nigeria: The pacific printers. 68 p.
- CHARRIER, A., ESKES, A.** 1997. Les caféiers. In: J. M. Charrier A., Hamon S. et Nicolas D. *L'amélioration des plantes tropicales*. Montpellier, France: CIRAD/ORSTOM, p. 171-196.
- CHITWOOD, B.G., BERGER, C.** 1960. Nemic parasites of coffee in Guatemala. *Phytopathology*, vol. 50, p. 631.
- CILAS, C., VILLAIN, L., LICARDIE, D.** 1993. Etude de la répartition de *Pratylenchus* sp. dans une plantation de caféiers au Guatemala. In: Quinzième Colloque Scientifique International sur le Café, 1993/06/06-11, Montpellier, France, p. 843-847
- CLARKE, D.D.** 1986. Tolerance of parasites and disease in plants and its significance in host-parasite interactions. *Advanced Plant Pathology*, vol. 5, p. 161-197.
- CLIFFORD, M.N.** 1985. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: M. N. Clifford and K. C. Willson. *Coffee : botany, biochemistry and production of beans and beverage*. New York: Croom Helm, p. 108-134.
- COFFEE BOARD DEPARTMENT.** 1971. *Annual Detailed technical Report for 1970-1971*. Chikmagalur, Inde: Coffee Board Department.
- COOLEN, W.A., D'HERDE, D.J.** 1972. *A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue*. Merelbeke, Belgique: Gouvernemental Research Station for Nematology and Entomology. 77 p.
- CORBETT, D.C.M., CLARK, S.A.** 1973. Surface features of the head in *Pratylenchus* spp. In: 2nd International Congress of Plant Pathology, Minneapolis. 393 p.
- CORBETT, D.C.M., CLARK, S.A.** 1983. Surface features in the taxonomy of *Pratylenchus* species. *Revue de Nématologie*, vol. 6, p. 21-43.
- COURTNEY, W.D., POLLEY, D., MILLER, V.L.** 1955. TAF, an improved fixative in nematode technique. *Plant Disease Reporter*, vol. 39, p. 570-571.
- CROSS, J.** 1996. *Implications phylogénétiques de variation de l'ADN chloroplastique chez les caféiers*. Paris, France: ORSTOM, Travaux et documents microfichés, 160 p.



- d'ANTONIO, A.M., LIBECK, P.R., COELHO, A.J.E., PAULA, V.** 1980. Levantamento de nematóides parasitas do cafeeiro que ocorrem no sul de Minas Gerais. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Campos do Jordão. Rio de Janeiro. 440 p.
- DAJOZ, R.** 1996. *Précis d'écologie*. Paris: Dunod. 551 p.
- DALMASSO, A., CASTAGNONE-SERENO, P., ABAD, P.** 1992. Seminar: Tolerance and resistance of plants to nematodes - knowledge, needs and prospects. *Nematologica*, vol. 38, p. 466-472.
- DAVID, M., MICHAUD, J.C.** 1989. *La prévision : approche empirique d'une méthode statistique*. Paris: INRA et Masson. 182 p.
- DAVIDE, R.G.** 1992. *Studies on nematodes affecting bananas in Philippines*. Los Baños, Laguna, Philippines: Philippine Agriculture and Ressources Research Foundation, Inc. 175 p.
- de MAN, J.G.** 1880. Die Einheimischen, frei in der reinen Erde und im süßen Wasser lebenden Nematoden. Vorläufiger Bericht und descriptiv-systematischer Theil. *Tidschr. ned. dierk. Vereen*, vol. 5, p. 1-104.
- de SURMAIN, C.E.** 1996. *Jours ordinaires à la finca. Une grande plantation de café au Guatemala*. Paris: ORSTOM. 452 p.
- DEDECCA, J.M.** 1958. Recent advances in our knowledge of coffee trees. 4. Anatomy. In: B. Sachs. *Advances in crop production technology*. Coffee and Tea Industries, vol. 81, p. 44-50.
- DICKERSON, O.J.** 1979. The effect of temperature on *Pratylenchus scribneri* and *P. alleni* populations on soybeans and tomatoes. *Journal of Nematology*, vol. 11, n. 1, p. 23-26.
- DOUCET, M., PINOCHET, J., DI RIENZO, J.** 1996. Comparative analysis of morphological and morphometrical characters in six isolates of *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nemata : Tylenchida). *Fundamental and Applied Nematology*, vol. 19, n. 1, p. 79-84.
- DOUCET, M.E., LAX, P., DI RIENZO, J., PINOCHET, J.** 1997. Comparación entre poblaciones y aislados de *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 ( Nematoda : Tylenchyda) en base al análisis de caracteres morfométricos. *Nematologia Mediterranea*, vol. 25, p. 311-316.
- DOUCET, M.E., CGNOLO, S.** 1998. Variabilidad intra e inter-específica de caracteres morfométricos en poblaciones del orden Tylenchida (Nematoda) provenientes de Argentina. *Nematologia Mediterranea*, vol. 26, p. 231-236.
- DROPKIN, V.H.** 1988. The concept of race in phytonematology. *Annual Review of Phytopathology*, vol. 26, p. 145-161.
- DU CHARME, E.P.** 1959. Morphogenesis and histopathology of lesion induced on *Citrus* roots by *Radopholus similis*. *Phytopathology*, vol. 49, p. 388-395.
- DUCHARME, E.P., PRICE, W.C.** 1966. Dynamics of multiplication of *Radopholus similis*. *Nematologica*, vol. 12, n. 1, p. 113-121.
- DUFOUR, B., BARRERA, F., DECAZY, B.** 1999. La broca de los frutos del cafeto : la lucha biológica como solución? In: B. Bertrand and B. Rapidel. *Desafios de la caficultura en Centroamerica*. San Jose, C. R.: ICCA-PROMECAFE, p. 293-326.
- DUNCAN, L.W.** 1986. The spatial distribution of citrus feeder roots and of the citrus nematode, *Tylenchus semipenetrans*. *Revue de Nématologie*, vol. 9, n. 3, p. 233-240.
- DUNCAN, L.W., MCSORLEY, R.** 1987. Modeling nematode populations. In: J. A. Veech and D. W. Dickson. *Vistas on nematology : a commemoration of the twenty-fifth anniversary of the society of nematologists*. Hyattsville, Maryland, USA: Society of nematologists, p. 377-389.

- DUNCAN, L., NOLING, J.W. 1987. The relationship between development of the citrus root system and infestation of *Tylenchulus semipenetrans*. *Revue de Nématologie*, vol. 10, p. 61-66.
- DUNCAN, L., COHN, E. 1990. Nematode parasites of citrus. In: M. Luc, R. A. Sikora and J. Bridge. *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford, Royaume Uni: C.A.B. International, p. 321- 346.
- DUNCAN, L., EISSENSTAT, D.M. 1993. Response of *Tylenchulus semipenetrans* to citrus fruit removal: implications for carbohydrate competition. *Journal of nematology*, vol. 25, n. 1, p. 7-14.
- DUNCAN, L.W., INSERRA, R.N., DUNN, D. 1998. Seasonal changes in citrus fibrous root starch concentration and body length of female of *Pratylenchus coffeae*. *Nematropica*, vol. 28, n. 2, p. 263-266.
- DUNCAN, L.W., INSERRA, R.N., THOMAS, W.K., DUNN, D., MUSTIKA, I., FRISSE, L.M., MENDES, M.L., MORRIS, K., KAPLAN, D.T. 1999. Molecular and morphological analysis of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely related species. *Nematropica*, vol. 29, p. 61-80.
- ESBENSHADE, P.R., TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1985. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, vol. 17, n. 1, p. 6-20.
- FALLAS, G., SARAH, J.L. 1995. Effect of temperature on the *in vitro* multiplication of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. *Fundamental and Applied Nematology*, vol. 18, n. 5, p. 445-449.
- FALLAS, G. 1995. *Contribution à l'étude de la diversité intraspécifique du nématode Radopholus similis*. These de Doctorat. Tours: Université François Rabelais. 109 p.
- FALLAS, G., HAHN, M.L., FARGETTE, M., BURROWS, P.R., SARAH, J.L. 1996. Molecular and biochemical diversity among isolates of *Radopholus* spp. from different areas of the world. *Journal of Nematology*, vol. 28, n. 4, p. 422-430.
- FALLAS, G., SARAH, J.L. 1995. Effect of temperature on the *in vitro* multiplication of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. *Fundamental and Applied Nematology*, vol. 18, p. 445-449.
- FALLAS, G., SARAH, J.L., FARGETTE, M. 1995. Reproductive fitness and pathogenicity of eight *Radopholus similis* isolates on banana plants (*Musa* AAA cv. Poyo). *Nematropica*, vol. 25, n. 2, p. 135-141.
- FAO-UNESCO. 1989. *Rapport sur les Ressources en Sols du Monde*. Rome, Italie: FAO.
- FARGETTE, M. 1987. Use of the esterase phenotypes in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. I-Stability of the esterase phenotype. *Revue de Nématologie*, vol. 10, n. 1, p. 39-43.
- FAZUOLI, L.C. 1986. Genética e melhoramento do cafeeiro. In: A. B. Rena, E. Malavolta, M. Rocha and T. Yamada. *Cultura do cafeeiro, fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba, SP, Brasil: Associação para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 87-113.
- FERRIS, V.R. 1961. A new species of *Pratylenchus* (Nemata : Tylenchida) from roots of soybeans. *Proceedings of Helminthological Society of Washington*, vol. 28, p. 109-111.
- FERRIS, H. 1985. Density-dependent nematodes seasonal multiplication rates and overwinter survivorship : a critical point model. *Journal of nematology*, vol. 17, n. 2, p. 93-100.
- FIGUEROA, A., PERLAZO, F. 1982. Investigación sobre *Meloidogyne* en Costa Rica, región I. In: Third Research & planning Conference on Root-Knot Nematodes, *Meloidogyne* spp., 11-15 janvier 1982, 12-25. p.
- FLORES, J.M., YEPEZ, G. 1969. *Meloidogyne* in coffee in Venezuela. In: J. E. Peachey. *Nematodes of Tropical Crops. Technical communication n° 40*. St Albans, Herts. England: Commonwealth Bureaux of Helminthology, p. 251-256.



- FRANCE, R.A., BRODIE, B.B.** 1996. Characterization of *Pratylenchus penentrans* from ten geographically isolated populations based on their reaction on potato. *Journal of Nematology*, vol. 28, n. 4, p. 520-526.
- FRANCO, C.M.** 1958. *Influence of temperature on growth of coffee plant*. IBEC, p. 1-21.
- FREDERICK, J.J., TARJAN, A.C.** 1989. A compendium of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nemata : Pratylenchidae). *Revue de Nématologie*, vol. 12, n. 3, p. 243-256.
- FUTUYMA, D.J.** 1986. *Evolutionary biology*. Sunderland, Massachusetts, U.S.A.: Sinauer Associates, Inc. 600p.
- GARCIA, A.** 1991. *Les Pseudococcidae déprédatrices du caféier (Coffea arabica) au Guatemala : cas particulier de Dymicocus cryptus (Hempel, 1918)*. Thèse de doctorat. Toulouse, France: Université Paul Sabatier. 122 p.
- GARRIZ, P.I.** 1978. Distribución radicular de tres cultivares de *Coffea arabica* L. en un suelo limo-arcilloso. *Ciencias de la Agricultura*, vol. 2, p. 66-75.
- GEBRE-EGZIABHER, T.B.** 1978. Some vegetative parameters of coffee, *Coffea arabica* L., proportional to yield. *Ethiopian Journal of Science*, vol. 1, p. 51-57.
- GIL-FAGIOLLY, S.L., HANANIA-CHAVEZ, C.A.** 1981. Influencia del regimen de lluvia sobre la fluctuación anual de las poblaciones de *Pratylenchus coffeae* (Zimm.). In: IV Simposio Latinoamericano sobre caficultura, 07-08/12, Guatemala, p. 14-28.
- GNANAPRAGASAM, N.C.** 1982. Effect of potassium fertilization and of soil temperature on the incidence and pathogenecity of the incidence and pathogenecity of the root-lesion nematode, *Pratylenchus loosi* Loof, on tea (*Camelia sinensis* L.). *Tea Quarterly*, vol. 51, n. 4, p. 169-174.
- GNANAPRAGASAM, N.C., MANUELPIILLAI, M.E.K.** 1984. Influence of inoculum level and temperature on the population build-up and pathogenecity of the root-lesion nematode (*Pratylenchus loosi* Loof) of tea. *Tea Quarterly*, vol. 53, n. 1&2, p. 19-22.
- GOLDEN, A.M., LOPEZ, R., VILCHEZ, H.** 1992. Description of *Pratylenchus gutierrezi* n. sp. (Nematoda : Pratylenchyda) from coffee in Costa Rica. *Journal of Nematology*, vol. 24, n. 2, p. 298-304.
- GOLDWIN, G.K.** 1982. A technique for studying the association between components of the weather and horticultural paramaters. *Sciencia Horticulturae*, vol. 16, n. 2, p. 101-107.
- GOMEZ-GOMEZ, L.** 1977. Infuencia de los factores climáticos sobre la periodicidad de crecimiento del cafeto. *Cenicafé*, vol. 1, p. 3-17.
- GOMMERS, F.J.** 1981. Biochemical interactions between nematodes and plants and their relevance to control. *Helminthological Abstracts - series B, Plant Nematology*, vol. 50, n. 1, p. 9-24.
- GONÇALVES, W.** 1995. Problemas na produção brasileira de café devido a fitonematóides. In: Congresso Internacional de Nematologia Tropical, 4-9 juin 1995, Pousada do Rio Quente, Goiás, Brésil - IBC/GERCA. p. 216-223.
- GONÇALVES, M.M., RODRIGUES, M.L.** 1976. *Estudos sobre o café do Timor. II. Nota sobre as possibilidades de produção do Híbrido do Timor no seu habitat natural*. Comunicações. Missao de estudos Agronomicos do Ultramar (Portugal), p. 31-72.
- GONÇALVES, W., THOMAZIELLO, R.A, MORAES, M.V., FERNANDES, J.A.E., COSTA, A.M., CORSI, T., JUNGUEIRA, C.A. & LACERDA, L.A.O.** 1978. Estimativas de danos ocasionados pelos nematoides do cafeeiro. In: 6º Congresso Brasileiro de Pesquisas cafeiras de Ribeirão Preto, São Paulo. Brésil - IBC/GERCA. p. 182-186.
- GONÇALVES, W., FERRAZ, L.C.C.B.** 1987. Resistência do cafeeiro a nematóides. *Informe Agropecuario*, vol.. 16, n. 172, p. 66-72.



- GOORIS, J., d'HERDE, C.J.** 1972. *A method for the quantitative extraction of eggs and second stage juveniles of Meloidogyne spp. from soil.* Ghent, Belgium : Min. Agric., State Agricultural Research Centre, p. 1-36.
- GOWEN, S., QUENEHERVE, P.** 1990. Nematodes parasites of bananas, plantain and abaca. In: M. Luc, R. A. Sikora and J. Bridge. *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture.* Wallingford, Royaume Uni: C.A.B. International, p. 431-460.
- GRASSIAS, M., KAMMACHER, P.** 1975. Observations sur la conjugaison chromosomique de *Coffea arabica* L. *Café, Cacao, Thé*, vol. 19, p. 177-190.
- GUISACAFRE-ARRILLAGA, J., GOMEZ, L.A.** 1940. Studies on the root system of *Coffea arabica* L. III: Growth and distribution in Catalina clay soil. *Journal Of Agriculture of the University of Puerto Rico*, vol. 24, n. 3, p. 109-117.
- GUISACAFRE-ARRILLAGA, J., GOMEZ, L.A.** 1942. Studies on the root system of *Coffea arabica* L. III: Growth and distribution of roots of 21-year-old trees in Catalina clay soil. *Journal Of Agriculture of the University of Puerto Rico*, vol. 26, n. 2, p. 34-39.
- GUTIERREZ, G., Q.M.F., J.** 1970. Algunas observaciones sobre la injertación practicada en café en Guatemala y El Salvador como medio para el control de nematodos. *Revista Cafetalera*, vol. 98, p. 35-47.
- HANDOO, Z.A., GOLDEN, A.M.** 1989. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (lesion nematodes). *Journal of Nematology*, vol. 21, n. 2, p. 202-218.
- HATERT, J.** 1958. Premières observations sur le système racinaire du caféier Robusta. *Bulletin Agricole du Congo Belge*, vol. 49, n. 2, p. 461-482.
- HERNANDEZ, A., FARGETTE, M., SARAH, J.L., DECAZY, B., ESKES, A., MOLINIER, V., BOISSEAU, M.** 1995. Caractérisation biochimique, biologique et morphologique de différentes populations de *Meloidogyne* spp. parasites du café en Amérique Centrale. In : ASIC. XIVe colloque scientifique international sur le café, 9-14 avril 1995, Kyoto, Japon.
- HERNANDEZ, A., FARGETTE, M., MOLINIER, V., RAMENASON, H., DECAZY, B., SARAH, J.L.** 1996. Enzymatic characterization and reproductive fitness on coffee of root-knot nematode populations from Central America. *Nematopica*, vol. 26, n. 3, p. 264. Third International Nematology Congress, 7-12 juillet 1996, Gosier, Guadeloupe.
- HERVE, G.** 1997. *Caractérisation biologique et moléculaire de populations de nématodes phytoparasites dans les plantations de caféiers d'Amérique Centrale.* D.E.A. Rennes, France: ENSAR. 36 p.
- HOLLIS, J.P., FIELDING, M.J.** 1958. Population behavior of plant parasitic nematodes in soil fumigation experiments. *La Fayette Agricultural Experimental Station Bulletin*, n. 515, p. 23.
- HOLLIS, J.P., RODRIGUEZ-KABANA, R.** 1966. Rapid kill of nematodes in flooded soil. *Phytopathology*, vol. 56, p. 1015-1019.
- HOOPER, D.J., CLARK, A.** 1980. Scanning electron micrographs of the head region of some species of aphelenchoidea (Aphelenchina : nematoda). *Nematologica*, vol. 26, p. 47-56.
- HOOPER, D.J.** 1986. Extraction of nematodes from plant material. In: J. F. Southey. *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.* London: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, p. 51-58.
- HOOPER, D.J.** 1986. Handling, fixing, staining and mounting nematodes. In: J. F. Southey. *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.* London: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, p. 59-80.
- HUETTEL, R.N., DICKSON, D.W., KAPLAN, T.** 1982. Sex attractants and behavior in the two races of *Radopholus similis*. *Nematologica*, vol. 28, p. 360-369.
- HUXLEY, P.A., TURK, A.** 1975. Preliminary investigations with Arabica coffee in a root observation laboratory in Kenya. *East African Agricultural and Forestry Journal*, vol. 40, n. 3, p. 300-312.

- IBRAHIM, S.K., PERRY, R.N., WEBB, R.M.** 1995. Use of isoenzyme and protein phenotypes to discriminate between six *Pratylenchus* species from Great Britain. *Annals of Applied Biology*, vol. 126, p. 317-327.
- INSERRA, R., DUNCAN, L.W., VOVLAS, N., LOOF, P.A.A.** 1996. *Pratylenchus loosi* from pasture grasses in Central Florida. *Nematologica*, vol. 42, n. 2, p. 159-172.
- INSERRA, R.N., DUNCAN, L.W., DUNN, D., KAPLAN, D.T., PORAZINSKA, D.** 1998. *Pratylenchus pseudocoffeae* from Florida and its relationship with *P. gutierrezi* and *P. coffeae*. *Nematologica*, vol. 44, p. 683-712.
- JARAMILLO, R., FIGUEROA, A.** 1974. Análisis armónico de la densidad de población de *Radopholus similis* (Cobb) Thorne en la zona bananera de Guapiles, Costa Rica. *Turrialba*, vol. 24, p. 402-407.
- JATALA, P., BRIDGE, J.** 1990. Nematodes parasites of root and tuber crops. In: M. Luc, R. A. Sikora and J. Bridge. *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford, Royaume Uni: C.A.B. International, p. 431- 460.
- KAMPFE, L.** 1960. The position in host roots of the primary attack by *Heterodera schachtii* Schmidt. *Nematologica*, vol. 5, p. 18-26.
- KAPLAN, D.T., KEEN, N.T.** 1980. Mechanisms conferring plant incompatibility to nematodes. *Revue de Nématologie*, vol. 3, n. 1, p. 123-134.
- KERMARREC, A., LA MASSESE, C.S.** 1972. New contributions to the study of the nematode fauna in the french west indies. *Nematologica*, vol. 2, n. 2, p. 41-43.
- KERMARREC, A., BERGE, J.B.** 1972. Méthodes d'estimation des populations de nématodes des sols et des racines. *Bull. Soc. Ecol.*, vol. 3, p. 151-169.
- KUGURU, F.M., FISHER, N.M., BROWNING, G., MITCHELL, H.W.** 1977. *The effect of tree density on yield and some yield components on Arabica coffee in Kenya*. Mimeographed report. Ruiru, Kenya: Coffee Research Station.
- KUMAR, A.C., KASI VISWANATHAN, P.R.** 1972. Studies of physiological races of *Pratylenchus coffeae*. *Journal of Coffee research*, vol. 2, n. 2, p. 10-15.
- KUMAR, A.C.** 1982. Studies on nematodes in coffee soils of south India. 7. Histopathology and host-parasitic relationships of *Pratylenchus coffeae* and two species of coffee. *Journal of Coffee Research*, vol. 12, n. 2, p. 23-30.
- KUMAR, A.C.** 1991. Host-parasitic relationship between certain plantation crops and the two races of the coffee nematode, *Pratylenchus coffeae*. *Journal of Coffee research*, vol. 21, n. 2, p. 103-107.
- KURPPA, S., VRAIN, T.** 1985. Penetration and feeding behavior of *Pratylenchus penetrans* in strawberry roots. *Revue de Nématologie*, vol. 8, n. 3, p. 273-276.
- LASHEMES, P., COMBES, M.C., TROUSLOT, P., CHARRIER, A.** 1997. Phylogenetic relationships of coffee-tree species (*Coffea* L.) as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 94, p. 947-955.
- LASHERMES, P., TROUSLOT, P., ANTHONY, F., COMBES, M.C., CHARRIER, A.** 1996. Genetic diversity for RAPD markers between cultivated and wild accessions of *Coffea arabica*. *Euphytica*, vol. 87, p. 59-64.
- LAVALLEE, W.H., ROHDE, R.A.** 1962. Attractiveness of plant roots to *Pratylenchus penetrans* (Cobb). *Nematologica*, vol. 8, p. 252-260.
- LE RŮ, B., PAPIEROK, B.** 1987. Taux intrinsèque d'accroissement naturel de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Homoptères *Pseudococcidae*). Intérêt d'une méthode simplifiée d'estimation de *r*. *Acta OEologica / OEologica Applicata*, vol. 8, n. 1, p. 3-14.



- LEROI, A.M., JONES, J.T.** 1998. Development biology. In: R. N. Perry and D. J. Wright. *The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes*. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, p. 155-179.
- LEROY, T.** 1993. *Diversité, paramètres génétiques et amélioration par sélection récurrente réciproque du caféier*. Thèse de Docteur. Montpellier: Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes. 147 p.
- LEROY, T., ROYER, M., PAILLARD, M., BERTHOULY, M., SPIRAL, J., TESSERAU, S., LEGAVRE, T., ALTOSAAR, I.** 1998. Introduction de gènes d'intérêt agronomique dans l'espèce *Coffea canephora* Pierre par transformation avec *Agrobacterium* sp. In: ASIC. Dix-septième Colloque Scientifique International sur le Café, 1997/07/20-25, Nairobi, Kenya, p. 439-446.
- LINDFORD, B.M.** 1939. Attractiveness of roots and excised shoot tissues to certain nematodes. *Proceedings of Helminthological Society of Washington*, vol. 6, p. 11-18.
- LOOF, P.A.A.** 1959. Über das Vorkommen von *Endotokia matricida* bei Tylenchida. *Nematologica*, vol. 4, n. 3, p. 238-240.
- LOOF, P.A.A.** 1978. *The Genus Pratylenchus Filipjev, 1936 (Nematoda : Pratylenchidae) : A review of its anatomy, morphology, distribution, systematics and identification*. Växtskyrapporter. Landbouwhogeschool, Wageningen, The Netherlands: Sveriges Lantbruksuniversitet, p.
- LOOF, P.A.A.** 1991. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. In: W. R. NICKEL. *Manual of agricultural nematology*. New York: DEKKER, M., p. 363-421.
- LOPEZ, E., MARISCAL, E.** 1995. *Hombres de café*. Guatemala Ciudad, Guatemala: ANACAFE. 1-7 p.
- LORDELLO, L.G.E.M.F., A.T.** 1969. O capimpangola difunde nematóides. *Revista de Agricultura Piracicaba*, vol. 44, p. 122.
- LOWNSBERRY, B.F., VIGLIERCHIO, D.R.** 1961. Importance response of *Meloidogyne hapla* to an agent from germinating tomato seeds. *Phytopathology*, vol. 51, p. 219-221.
- LUC, M.** 1987. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *Revue de Nématologie*, vol. 10, n. 2, p. 203-218.
- LUC, M., HUNT, D.J., MACHON, J.E.** 1990. Morphology, anatomy and biology of plant parasitic nematodes - a synopsis. In: M. Luc, R. A. Sikora and J. Bridge. *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford, Royaume Uni: C.A.B. International, p. 1-44.
- LUC, M., REVERSAT, G.** 1985. Possibilités et limites des solutions génétiques aux affections provoquées par les nématodes sur les cultures tropicales. In: *Création de variétés résistantes aux nématodes des cultures : intérêt, possibilités et limites*. Paris, France, 15 et 22 mai 1985. Paris, France: Comptes Rendus des Séances, Académie d'Agriculture de France, vol. 71, n. 7, p. 781-791.
- MAESTRI, M., BARROS, R.S.** 1977. Coffee. In: F. De Alvin and T. T. Kozlowski. *Ecophysiology of Tropical Crops*. London: Academic Press, p. 249-278.
- MAGALHAES, A.C.N.** 1975. Efeito de temperatura elevada no sistema radicular sobre os procesos de translocação em cafeeiros. *Ciencia & Cultura*, vol. 27, n. 11, p. 1224-1227.
- MARTIN, W.J., NEWSON, L.D., JONES, J.E.** 1956. Relationship of nematodes to the development of *Fusarium* wilt on cotton. *Phytopathology*, vol. 46, p. 285-289.
- MATEILLE, T.** 1994. Biologie de la relation plantes-nématodes: perturbations physiologiques et mécanismes de défense des plantes. *Nematologica*, vol. 40, p. 276-311.
- MAUZA, B.E., WEBSTER, J.M.** 1982. Suppression of alfalfa growth by concomitant populations of *Pratylenchus penetrans* and two *Fusarium* species. *Journal of Nematology*, vol. 14, n. 3, p. 364-367.



- MAYNARD SMITH, J. 1989. *Evolutionary genetics*. Oxford, UK: Oxford University Press. 325 p.
- MAYR, E. 1942. *Systematics and the origin of species*. New York: Columbia University Press.
- MAYR, E. 1974. *Populations, espèces et évolution*. Paris: Hermann. 496 p.
- MCGUIDWIN, A.E. 1989. Distribution of *Pratylenchus scribneri* between root and soil habitats. *Journal of Nematology*, vol. 21, p. 409-415.
- MELAKEBERHAN, H., BIRD, G., REBECCA, G. 1997. Impact of plant nutrition on *Pratylenchus penetrans* infection of *Prunus avium* rootstock. *Journal of Nematology*, vol. 29, n. 3, p. 381-388.
- MINAGAWA, N. 1991. Descriptions of two new species of *Pratylenchus* (Tylenchida: Pratylenchidae) from Japan. *Japanese Journal of Nematology*, vol. 21, p. 18-25.
- MINTON, N.A., MINON, E.B. 1963. Infection relationship between *Meloidogyne incognita acrita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in cotton. *Phytopathology*, vol. 53, p. 624.
- MIZUKUBO, T. 1992, a. Morphological and statistical differentiation of *Pratylenchus coffeae* complex in Japan (Nematoda : Pratylenchida). *Applied Entomology and Zoology*, vol. 27, n. 2, p. 213-224.
- MIZUKUBO, T. 1992, b. *Pratylenchus pseudocoffeae* n. sp. (Nematoda : Pratylenchidae) from composite plants in Japan. *Applied Entomology and Zoology*, vol. 27, n. 3, p. 437-444.
- MIZUKUBO, T. 1995. Evidence of *Pratylenchus coffeae* races in differetial reproduction in fifteen cultivars (Nematoda : Pratylenchidae). *Japanese Journal of Nematology*, vol. 25, n. 2, p. 85-93.
- MIZUKUBO, T., ADACHI, H. 1997. Effect of temperature on *Pratylenchus penetrans* development. *Journal of Nematology*, vol. 29, n. 3, p. 306-314.
- MOHOTTI, K.M. 1998. *Non-chemical approaches for the management of the root lesion nematode, Pratylenchus loosi* Loof, 1960 in tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) with special reference to use of endospore-forming bacterium, *Pasteuria penentrans*. Ph.D. Thesis. Reading: University of Reading.
- MOMOTA, Y. 1978. Comparative observations of the lip region of species of *Pratylenchus* with scanning electron microscope. *Proc. Kanto-Tosan Plant Protection Society*, vol. 25, p. 126.
- MONTALVO, A.E., MELENDEZ, P.L. 1986. Histopathology of interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in cotton. *Journal of Agriculture of University of Puerto Rico*, vol. 70, p. 245-254.
- MONTEIRO, A.R., LORDELLO, L.G.E. 1974. Encontro do nematóide *Pratylenchus coffeae* atacando cafeeiro em São Paulo. *Revista de Agricultura Piracicaba*, vol. 49, p. 164.
- MONTOYA, C.A., SYLVAIN, P.G., UMANA, R. 1961. Effect of light intensity and nitrogen fertilization upon growth differentiation balance in *Coffea arabica* L. *Coffee*, vol. 3, p. 97-115.
- MORENO, R.G., CASTILLO, Z.J. 1984. La variedad Colombia. Chinchina, Colombie. *Cenicafé, Boletín técnico*, vol. 9, p. 27.
- MORENO-VAQUERANO, G. 1980. *Estudio del ciclo biologico de Pratylenchus coffeae*. Resúmenes de investigaciones en café 1979-1980. Nueva San Salvador, El Salvador: Instituto Salvadoreño de Investigaciones en Café. p. 36-37.
- MOUNPORT, D., BAUJARD, P., MARTINY, B. 1990. Etude ultrstructurale de la cuticule de *Pratylenchus brachyurus*, *P. loosi* et *P. sefaensis* (Nemata : Pratylenchidae). *Revue de Nématologie*, vol. 13, n. 3, p. 249-254.

- MULLER, B.L. 1996. *Analyse du comportement hydrique de cultures : diagnostic et modélisation en vue de la gestion des irrigations. Cas des cultures de maïs et tomate sur les sols alluviaux et sols andiques au Guatemala*. Thèse de Doctorat. Paris, France: Institut National Agronomique Paris-Grignon. 304 p.
- NEGRON, J.A., ACOSTA, N. 1989. The *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffae* - *Meloidogyne incognita* complex in Bourbon coffeae. *Nematropica*, vol. 19, n. 2, p. 161-169.
- NELSON, R.R. 1978. Genetics of horizontal resistance to plant disease. *Annual Review of Phytopathology*, vol. 16, p. 359-378.
- NORTON, D.C. 1978. *Ecology of plant-parasitic nematodes*. New York: Willey Interscience. 268 p.
- NUTMAN, F.J. 1933. The root system of *Coffea arabica* L. I: Root system in typical soils of British East Africa. II: The effect of some soil conditions in modifying the "normal" root system. *Emp J Exp Agric*, vol. 1, p. 271-296.
- NUTMAN, F.J. 1934. The root system of *Coffea arabica* L. III: The spatial distribution of the absorbing area of the root. *Emp J Exp Agric*, vol. 2, n. 8, p. 293-302.
- O'BANNON, J.H., REYNOLDS, H.W. 1965. Water consumption and growth of root-knot nematode infected and uninfected cotton plants. *Soil Science*, vol. 99, p. 251-255.
- O'BANNON, J.H., TAYLOR, A.L. 1968. Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot discs. *Phytopathology*, vol. 58, p. 385.
- O'BANNON, J.H., RADEWALD, J.D., TOMERLIN, A.T. 1972. Population fluctuation of three parasitic nematodes in Florida Citrus. *Journal of Nematology*, vol. 4, n. 3, p. 194-199.
- O'BANNON, J.H., RADEWALD, J.D., TOMERLIN, A.T., INSERRA, R.N. 1976. Comparative influence of *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae* on Citrus. *Journal of Nematology*, vol. 8, n. 1, p. 58-63.
- OLTHOF, H.A. 1968. Races of *Pratylenchus penetrans* and their effect on black root rot resistance of tobacco. *Nematologica*, vol. 14, p. 482-488.
- ORION, D., LAPID, D. 1993. Scanning electron microscope study on the interaction of *Pratylenchus mediterraneus* and *Vicia sativa* roots. *Nematologica*, vol. 39, p. 322-327.
- OROZCO-CASTILLO, F.J., CALMERS, K.J., WAUGH, R., POWELL, W. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 87, p. 934-940.
- ORUI, Y. 1996. Discrimination of the main *Pratylenchus* species (Nematoda : Pratylenchidae) in Japan by PCR-RFLP analysis. *Applied Entomology and Zoology*, vol. 31, n. 4, p. 505-514.
- OSTENDORF, F.W. 1962. The coffee shade problem: review article. *Tropical Abstracts*, vol. 17, p. 577-581.
- OYEKAN, P.O., BLAKE, C.D., MITCHELL, J.E. 1972. Histopathology of pea roots axenically infected by *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology*, vol. 4, n. 1, p. 31-35.
- PALANICHAMY, L. 1973. Nematode problem of coffee in India. *Indian Coffee*, vol. 37, p. 99-100.
- PARLEVLIET, J.E. 1979. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology*, vol. 17, p. 203-22.
- PAYAN, L.A., DICKSON, D.W. 1988. Host specificity of four populations of *Pratylenchus brachyurus*. *Annals of Applied Nematology*, vol. 2, p. 140-143.
- PAYAN, L.A., DICKSON, D.W. 1990. Comparison of populations of *Pratylenchus brachyurus* based on isozyme phenotypes. *Journal of Nematology*, vol. 22, n. 4, p. 538-545.



- PERRY, R.N., PLOWRIGHT, R.A., WEBB, R.M. 1980. Matting between *Pratylenchus penentrans* and *P. fallax* in sterile culture. *Nematologica*, vol. 26, p. 125-129.
- PERRY, R.N., JONES, J.T. 1998. The use of molecular biology techniques in plant nematology: past, present and future. *Russion Journal of Nematology*, vol. 6, n. 1, p. 47-56.
- PIERRE, J.S., GUILLÔME, M., QUERRIEN, M.T. 1986. Une méthode statistique et graphique de recherche des périodes de l'année, où les populations animales sont particulièrement sensibles à une composante donnée du climat (périodes critiques). Application au cas des pucerons des céréales. *Acta OEcologica*, vol. 7, n. 4, p. 365-380.
- PIERRE, J.S. 1993. Modèles de la dynamique des populations d'invertébrés terrestres : acquis et problèmes ouverts. In: J. D. Lebreton and B. Asselain. *Biométrie et environnement*. Paris: Société française de Biométrie, p. 241-270.
- PINOCHET, J., FERNANDEZ, D., ESMENJAUD, D., DOUCET, M. 1993. Effects of six *Pratylenchus vulnus* isolates on the growth of peach-almond hybrid and apple rootstocks. *Journal of Nematology*, vol. 25, n. 4S, p. 843-848.
- PINOCHET, P., CENIS, J.L., FERNANDEZ, C., DOUCET, M., MARULL, J. 1994. Reproductive fitness and random amplified polymorphic DNA variation among isolates of *Pratylenchus vulnus*. *Journal of Nematology*, vol. 26, n. 3, p. 271-277.
- PINOCHET, J., FERNANDEZ, C., SARAH, J.L. 1995. Influence of temperature on *in vitro* reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi* and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology*, vol. 18, n. 4, p. 391-392.
- PITCHER, R.S. 1968. The host-parasite relations and ecology of *Trichodorus viruliferus* on apple roots a observed from under-ground laboratory. *Nematologica*, vol. 13, p. 547-557.
- PORTER, D.M., POWELL, N.T. 1967. Influence of certain *Meloidogyne* species on *Fusarium* wilt development in flue-cured tobacco. *Phytopathology*, vol. 57, p. 282-285.
- POWELL, N.T. 1963. The role of plant parasitic nematodes in fungus diseases. *Phytopathology*, vol. 53, p. 28-35.
- POWELL, N.T. 1971. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. *Annual Review of Phytopathology*, vol. 9, p. 253-274.
- PROT, J.C. 1980. Migration of plant-parasitic nematodes towards plant roots. *Revue de Nématologie*, vol. 3, n. 2, p. 305-318.
- QUENHERVE, P. 1989a. Population of nematodes in soils under banana, cv. Poyo, in Ivory Coast. 3. Seasonal dynamics of populations in mineral soil. *Revue de Nématologie*, vol. 12, n. 2, p. 149-160.
- QUENHERVE, P. 1989b. Population of nematodes in soils under banana, cv. Poyo, in Ivory Coast. 3. Seasonal dynamics of populations in organic soil. *Revue de Nématologie*, vol. 12, n. 2, p. 161-170.
- RADEWALD, J.D., O'BANNON, J.H., TOMERLIN, T. 1971a. Temperature effect on reproduction and pathogenecity of *Pratylenchus coffeae* and *P. brachyurus* and survival of *P. coffeae* in roots of *Citrus jambhiri*. *Journal of Nematology*, vol. 3, n. 4, p. 390-394.
- RADEWALD, J.D., O'BANNON, J.H., TOMERLIN, T. 1971b. Anatomical studies of *Citrus jambhiri* roots infected by *Pratylenchus coffeae*. *Journal of Nematology*, vol. 3, n. 4, p. 409-418.
- RAPILLY, F. 1991. *L'épidémiologie en pathologie végétale*. Paris: INRA. 317 p.
- REYNA, E.H. 1966. Un nuevo método de injertación en café. *Boletin técnico*, p. 40.
- REYNA, E.H. 1968. La técnica de injerto hipocotiledonar del cafeto para le control de nematodos. *Café (Lima)*, vol. 17, n. 1, p. 5-11.



- RIDLEY, M.** 1997. *Evolution biologique*. Paris: De Boeck & Larcier s.a. 719 p.
- RIVOAL, R., LASSERRE, F., HULLE, M., DOUSSINAULT, G.** 1991. Evaluation de la résistance à *Heterodera avenae* chez le blé par des tests miniaturisés. *Mededelingen van de Faculteit Lnbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Ghent*, vol. 56, p. 1281-1292.
- ROMAN, J., TRIANTAPHYLLOU, A.C.** 1969. Gametogenesis and reproduction of seven species of *Pratylenchus*. *Journal of Nematology*, vol. 1, n. 4, p. 357-362.
- ROMAN, J., HIRSHMANN, H.** 1969. Morphology and morphometrics of six species of *Pratylenchus*. *Journal of Nematology*, vol. 1, n. 4, p. 363-386.
- ROSALES-MERCADO, J.A., REYES-GARCIA, M.A.** 1991. Estudio de dinamica poblacional de nematodos en dos zonas cafetaleras de las regiones III y IV de Nicaragua. In: IICA/PROMECAFE. XIV Simposio sobre caficultura latinoamericana, 20-24 de mayo, Panama City, Panama.
- SALAS, L.A., ECHANDI, E.** 1961. Parasitic nematodes in coffee plantations of Costa Rica. *Coffee*, vol. 3, p. 6-9.
- SAMPEDRO, J., PEREZ, J., FOWLER, V., GANDARILLA, H., ACOSTA, O., LOREZO, E., BATERRECHEA, M., GARCIA, I., O'CONNORS, B., FERNANDEZ, E., GARCIA, O.** 1986. Parasitic nematodes associated with coffee crops. *Revue de Nématologie*, vol. 9, n. 3, p. 308.
- SAN JUAN, J.R., MORALES, C.R., LOPEZ DE LEON, E.E., ESTRADA, C.F.** 1982. *Ciclos de crecimiento del cafeto en Guatemala*. Guatemala, Guatemala, C.A.: Asociacion Nacional de Café. 1-9 p.
- SARAH, J.L., LASSOUDIERE, A., GUEROUT, R.** 1983. La jachère nue et l'immersion du sol : deux méthodes intéressantes de lutte intégrée contre *Radopholus similis* dans les bananeraies des sols tourbeux de Côte d'Ivoire. *Fruits*, vol. 38, n. 1, p. 35-42.
- SARAH, J.L., PERRIER, X.** 1988. Echantillonnage de *Radopholus similis* dans le bananier : taille de l'échantillon et précision. *Nematologica*, vol. 34, n. 6, p. 292.
- SARAH, J.L.** 1991. Estimation of nematode infestation in banana. *Fruits*, vol. 45, n. 6, p. 643-646.
- SARAH, J.L., HUGON, R.** 1991. Dynamique de populations de *Pratylenchus brachyurus* en plantation d'ananas en Côte d'Ivoire. *Fruits*, vol. 46, n. 3, p. 241-250.
- SASSER, J.N.** 1979. Economic importance of *Meloidogyne* in tropical countries. In: F. Lamberti and C. E. Taylor. *Root-knot nematodes (Meloidogyne species), Systematics Biology and Control*. London: Academic Press, p. 257-268.
- SAYRE, R.M.** 1971. Biotic influences in soil environment. In: B. M. Zuckerman, W. F. Mai and R. A. Rohde. *Plant Parasitic Nematodes*. New York and London: Academic Press, vol. I Morphology, Anatomy, Taxonomy and Ecology, p. 235-256.
- SCHIEBER, E., SOSA, O.** 1960. Nematodes on coffee in Guatemala. *Plant Disease Reporter*, vol. 44, p. 722-723.
- SCHIEBER, E.** 1966. Nematodos que atacan al café en Guatemala, su distribución, sintomatología y control. *Turrialba*, vol. 16, n. 2, p. 30-135.
- SCHIEBER, E., GRULLON, L.** 1969. El problema de nematodos que atacan el café *Coffea arabica* L. en la República Dominicana. *Turrialba*, vol. 19, p. 513-517.
- SEINHORST, J.W.** 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from soil. *Nematologica*, vol. 4, p. 67-69.
- SEINHORST, J.W.** 1965. The relation between nematode density and damage to plants. *Nematologica*, vol. 11, p. 137-154.

- SEINHORST, J.W., KUNIYASU, K. 1971. Interaction between *Pratylenchus penentrans* and *Fusarium oxysporum* forma *pisi* race 2 and of *Rotylenchus uniformis* and *Fusarium oxysporum* forma *pisi* race 1 on peas. *Nematologica*, vol. 17, p. 44-452.
- SEINHORST, J.W. 1998. The common relation between population density and plant weight in pot and microplot experiment with various nematode plant combinations. *Fundamental and Applied Nematology*, vol. 21, n. 5, p. 459-468.
- SEQUEIRA-BUSTAMANTE, F., SCHUPPENER, H., CUAREZMA, J., ZEPEDA-ARANA, P. 1979. Nematodos fitoparasitos asociados al cultivo del cafeto (*Coffea arabica* L.) en Nicaragua. *Nematropica*, vol. 9, n. 2, p. 97.
- SHANER, G., STROMBERG, E.L., LACY, G.H., BARKER, K.R., PIRONE, T.P. 1992. Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. *Annual Review of Phytopathology*, vol. 30, p. 47-66.
- SHER, S.A., ALLEN, M.W. 1953. Revision of the genus *Pratylenchus* (Nematoda: Tylenchidae). *University of California Publications in Zoology*, vol. 57, p. 441-470.
- SHER, S.A., BELL, H. 1975. Scanning electron micrographs of the anterior region of some species of Tylenchoidea (Tylenchida : Nematoda). *Journal of Nematology*, vol. 7, n. 1, p. 69-83.
- SIDDIQI, M.R. 1972. *Pratylenchus coffeae*. In: S. Willmott, P. S. Gooch, M. R. Siddiqi and M. Franklin. *Description of plant-parasitic nematodes*. St. Albans, Herts., England: Commonwealth institute of Helminthology, vol. Set 1, n. 6, p. 1-4.
- SIDDIQI, M.R., DABUR, K.R., BAJAJ, H.K. 1991. Descriptions of three new species of *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae). *Nematologica Mediterranea*, vol. 19, p. 1-7.
- SILVA, R.A., INOMOTO, M.M. 2000. Caracterização de dois isolados de *Pratylenchus coffeae* do Brasil através de plantas hospedeiras. *Fitopatologia Brasileira*, vol. 25, p. 340.
- SIMMONS, C.S., TARANO, J.M., PINTO, J.H. 1959. *Clasificación de reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala*. Guatemala: Ministerio de Educación Pública. 999 p.
- SIVAPALAN, P., GNANAPRAGASAM, N.C. 1975. The effect of soil temperature and of infestation by *Pratylenchus loosi* on the growth and nutrient status of a susceptible and tolerant variety of young tea (*Camelia sinensis* L.). *Tea Quarterly*, vol. 45, n. 1 & 2, p. 29-35.
- SPIRAL, J., THIERRY, C., PAILLARD, M., PETIARD, V. 1993. Obtention de plantules de *Coffea canephora* Pierre (Robusta) transformées par *Agrobacterium rhizogenes*. *Compte Rendus de l'Académie des Sciences*, vol. 316, n. 1, p. 1-6.
- STURDY, D. 1935. Observations on coffee under artificial shade at Selian coffee estate Arusha. *East African Agriculture*, vol. 1, p. 131-139.
- SUAREZ DE CASTRO, F. 1951. Algunas observaciones sobre el sistema radicular de *Coffea arabica* L. *Revista Cafetalera de Colombia*, vol. 10, n. 12, p. 4-12.
- SUAREZ DE CASTRO, F. 1953. *Distribucion de las raices de Coffea arabica L. en un suelo franco-limoso*. Boletín Técnico. Chinchina: Centro Nacional de Investigaciones de Café, p. 5-28.
- SUAREZ DE CASTRO, F., RODRIGUEZ, G.A. 1956. Relación entre el crecimiento del cafeto y algunos factores climáticos. *Boletín Técnico de la Federación Nacional de Cafeteros (Colombia)*, vol. 2, p. 1-13.
- TARJAN, A.C. 1971. Some interesting associations of parasitic nematodes with cacao and coffee in Costa Rica. *Nematropica*, vol. 1, n. 1, p. 5.
- TARJAN, A.C., FREDERICK, J.J. 1978. Intraspecific morphological variation among populations of *Pratylenchus brachyurus* and *P. coffeae*. *Journal of Nematology*, vol. 10, n. 2, p. 152-160.



- TARTE, R., MAI, W.F.** 1976. Morphological variation in *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology*, vol. 8, n. 3, p. 185-195.
- TOMASSONE, R., DANZART, M., DAUDIN, J.J., MASSON, J.P.** 1988. *Discrimination et classement*. Paris: Masson. 172 p.
- TOMASSONE, R.** 1988. *Comment interpréter les résultats d'une analyse factorielle discriminante*. Paris: ITCF. 56 p.
- TOMASSONE, R., DERVIN, C., MASSON, J.P.** 1993. *Biométrie. Modélisation des phénomènes biologiques*. Paris: Masson. 553 p.
- TORUAN-MATHIUS, N., PANCORO, A., SUDARMADJI, D., MAWARDI, S., HUTABARAT, T.** 1995. Root characteristics and molecular polymorphisms associated with resistance to *Pratylenchus coffeae* in Robusta coffee. *Menara Perkebunan*, vol. 63, n. 2, p. 43-51.
- TRETT, M.W., PERRY, R.N.** 1985. Functional and evolutionary implications of the anterior sensory anatomy of species of root-lesion nematode. *Revue de Nématologie*, vol. 8, n. 4, p. 341-355.
- TRIANAPHYLLOU, S.A.** 1971. Genetics and Cytology. In: B. M. Zuckerman, W. F. Mai and R. A. Rohde. *Plant Parasitic Nematodes*. New York and London: Academic Press, vol. II Cytogenetics, host-parasite interactions and physiology, p. 1-34.
- TRIANAPHYLLOU, A.C.** 1987. Genetics of nematode parasitism on plants. In: J. A. Veech and D. W. Dickson. *Vistas in nematology*. Hyattsville, MD, USA: Society of Nematologists, p. 354-363.
- TRUDGILL, D.L.** 1986. Concepts of resistance, tolerance and susceptibility in relation to cyst nematodes. In: F. Lamberti and C. E. Taylor. *Cyst Nematodes*. New York/London: Plenum, p. 179-189.
- TRUDGILL, D.L.** 1991. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. *Annual Review of Phytopathology*, vol. 29, p. 167-192.
- UEHARA, T., MIZUKUBO, T., KUSHIDA, A., MOMOTA, Y.** 1998. Identification of *Pratylenchus coffeae* and *P. loosi* using specific primers for PCR amplification of ribosomal DNA. *Nematologica*, vol. 44, p. 357-368.
- UEHARA, T., KUSHIDA, A., MOMOTA, Y.** 1999. Rapid and sensitive identification of *Pratylenchus* spp. using reverse dot blot hybridization. *Nematology*, vol. 1, n. 5, p. 549-555.
- VALETTE, C.** 1996. *Etude de la variabilité des interactions bananiers-nématode: Approche des facteurs de la résistance du bananier à Radopholus similis*. Thèse de Doctorat. Paris: Université de Paris 6. 120p.
- VALETTE, C., ANDARY, C., GEIGER, J.P., SARAH, J.L., NICOLE, M.** 1998. Histochemical and cytochemical investigations of phenols in roots of banana infected by the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Phytopathology*, vol. 88, n. 11, p. 1141-1148.
- VAN GUNDY, S.D., MC ELROY, F.D., COOPER, A.F., STOLZY, L.H.** 1968. Influence of soil temperature, irrigation and aeration on *Hemicycliophora arenaria*. *Soil Sciences*, vol. 106, p. 270-274.
- VAN WAMBEKE, A.** 1992. *Sols des tropiques : Propriétés et appréciations*. Wageningen, Pays Bas: Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale ACP/UE. 343 p.
- VARELA RAMIREZ, R.** 1983. *Interacción de Meloidogyne incognita y Fusarium solani en la marchitez del pimiento (Capsicum annum L.)*. M.S. Thesis. Mayagüez: University of Puerto Rico. 87 p.
- VASUDEVA, N., RAMAIAH, P.K.** 1979. The growth and development of Arabica coffee under south Indian conditions. *Journal of Coffee Research*, vol. 9, n. 2, p. 35-45.



- VILLAIN, L., SARAH, J.L., DECAZY, A., MOLINA, A., SIERRA, S.** 1996. Evaluation of grafting on *Coffea canephora* var. Robusta, and chemical treatment for control of *Pratylenchus* sp. in *C. arabica* cropping systems. *Nematologica*, vol. 26, n. 3, p. 325. Third International Nematology Congress, 7-12 juillet 1996, Gosier, Guadeloupe.
- VILLAIN, L., BAUJARD, P., MOLINA, A., PIGNOLET, L., SARAH, J.L.** 1998. Morphological and biological characterization of three *Pratylenchus* spp. populations parasiting coffee trees in Guatemala. *Nematologica*, vol. 44, n. 5, p. 600-601. 24th International Nematology Symposium, 4-9 août 1998, Dundee, Scotland, U.K.
- VILLAIN, B., ANZUETO, F., HERNANDEZ, A., SARAH, J.L.** 1999. Los nematodos parasitos del cafeto. In: B. Bertrand and B. Rapidel. *Desafios de la caficultura en Centroamerica*. San Jose, C. R.: ICCA-PROMECAFE, p. 327-368.
- VOVLAS, N., LAMBERTI, F.** 1990. Histological alterations induced by *Rotylenchulus reniformis* on *Coffea arabica* roots. *Nematologia mediterranea*, vol. 18, p. 77-81.
- VOVLAS, N., TROCCOLI, A.** 1990. Histopathology of broad been roots infected by the lesion nematode *Pratylenchus penetrans*. *Nematologia Mediterranea*, vol. 18, n. 2, p. 239-242.
- VRAIN, T.C., FORGE, T.A., DE YOUNG, R.** 1997. Population dynamics of *Pratylenchus penetrans* parasitizing raspberry. *Fundamental and Applied Nematology*, vol. 20, n. 1, p. 29-36.
- WAKEFIELD, A.J.** 1933. *Arabica coffee. Periods of growth and seasonal mesures*. Tanganyika Territory : Department of Agriculture.
- WANG, A., AVELINO, J.** 1999. El ojo de gallo del cafeto (*Mycena citricolor*). In: B. Bertrand and B. Rapidel. *Desafios de la caficultura en Centroamerica*. San Jose, C. R.: ICCA-PROMECAFE, p. 243-260.
- WEHUNT, E.J., EDWARDS, D.I.** 1971. Intra-uterine egg development of *Pratylenchus coffeae* (Zimmerman) Filipjev and Schuurmans Stekhoven. *Journal of Nematology*, vol. 3, n. 4, p. 422-423.
- WEISER, W.** 1955. The attractivness of plants of plants to larvae of root-knot nematode. I. The effect of tomato seedlings and excised roots on *Meloidogyne hapla* Chitwood. *Proceedings of helminthological Society of Washington*, vol. 22, p. 106-112.
- WHITEHEAD, A.G.** 1968. Nematodea. In: Le Pelley, R.H. (Ed). *Pests of coffee*. Longmans, Green and Co. Ltd., London and Harlow. p. 407-422.
- WHITEHEAD, A.G.** 1969. Nematodes Attacking Coffee, Tea and Cocoa and their control. In: Peachey, J.E. (Ed). *Nematodes of Tropical Crops*. Technical communication n°40. Commonwealth Bureau of Helminthology. St Albans, Herts. England. p. 238-250.
- WILCOX-LEE, D., LORIA, R.** 1987. Effects of nematode parasitism on plant-water relations. In: J. A. Veech and D. W. Dickson. *Vistas on nematology : a commemoration of the twenty-fifth anniversary of the society of nematologists*. Hyattsville, Maryland, USA: Society of nematologists, p. 260-266.
- WILLEY, R.W.** 1975. The use of shade in coffee, cocoa and tea. *Horticultural Abstracts*, vol. 45, n. 12, p. 791-198.
- WILLSON, K.C.** 1985. Cultural methods. In: M. N. Clifford and K. C. Willson. *Coffee : botany, biochemistry and production of beans and beverage*. New York: Croom Helm, p. 157-207.
- WOMERSLEY, C.Z., WHARTON, D.A., HIGA, L.M.** 1998. Survival biology. In: R. N. Perry and D. J. Wright. *The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes*. Wallingford: CABI Publishing, p. 271-298.
- WRIGLEY, G.** 1988. *Coffee*. Essex: Longman Scientific & Techincal. 610 p. *Tropical Agriculture Series*.
- WYATT, I.J., WHITE, P.F.** 1977. Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. *Journal of Applied Ecology*, vol. 14, p. 757-766.

**YOKOO, T., KUKODA, Y.** 1966. On the relation ship between the invasion and multiplication of the root lesion nematode (*Pratylenchus coffeae*) in the host plants and the soil temperature. *Agricultural Bulletin of the Saga University*, vol. 22, p. 93-103.

**ZIMMERMANN, A.** 1898. *De nematoden der koffiewortels*. Batavia (=Jakarta, Indonesia) and S'Gravenhage (the Hague, The Netherlands): G. Kolf & Co.p. *Mededeelingen uit's lands pantentuin* 27.

**ZUNKE, U.** 1990a. ectoparasitic feeding behaviour of the root lesion nematode *Pratylenchus penetrans* on root hairs of different host plant. *Revue de Nématologie*, vol. 13, n. 3, p. 331-337.

**ZUNKE, U.** 1990b. Observations on the invasion and endoparasitic behavior of the root lesion nematode *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology*, vol. 22, n. 3, p. 309-320.

Production scientifique



## PUBLICATIONS :

**VILLAIN, L., MOLINA, A., SIERRA, S., DECAZY, B., SARAH, J.L.** 2000. Effect of grafting and nematicide treatments on damage due to the root-lesion nematode, *Pratylenchus* spp. on *Coffea arabica* in Guatemala. *Nematropica*. *Accepté pour publication*.

**VILLAIN, B., ANZUETO, F., HERNANDEZ, A., SARAH, J.L.** 1999. Los nematodos parásitos del café. In: B. Bertrand and B. Rapidel. *Desafíos de la caficultura en Centroamérica*. San Jose, C. R.: ICCA-PROMECAFE, p. 327-368.

**BERTRAND, B., CILAS, C., HERVE, G., ANTHONY, F., ETIENNE, H., VILLAIN, L.** 1998. Relations entre les populations de deux espèces de nématodes, *Meloidogyne exigua* et *Pratylenchus* sp., dans les racines de *Coffea arabica* au Costa Rica. *Plante, Recherche, Développement*, vol. 5, n. 4, p. 279-286.

**DECAZY, B., PHILIPPE, R., MARBAN, N., VILLAIN, L., SARAH, J.L.** 1997. *Evaluation et sélection de germoplasme pour la résistance aux principaux nématodes en Amérique Centrale. rapport technique final*. Contrat CT1\*CT92-0090. Paris: CIRAD.p.

## COMMUNICATIONS :

**VILLAIN, L., BAUJARD, P., MOLINA, A., PIGNOLET, L., SARAH, J.L.** 1998. Morphological and biological characterization of three *Pratylenchus* spp. populations parasiting coffee trees in Guatemala. *Nematologica*, vol. 44 n. 5, p. 600-601. Proceedings of the 24th International Nematology Symposium, 4-9 août 1998, Dundee, Scotland, U.K.

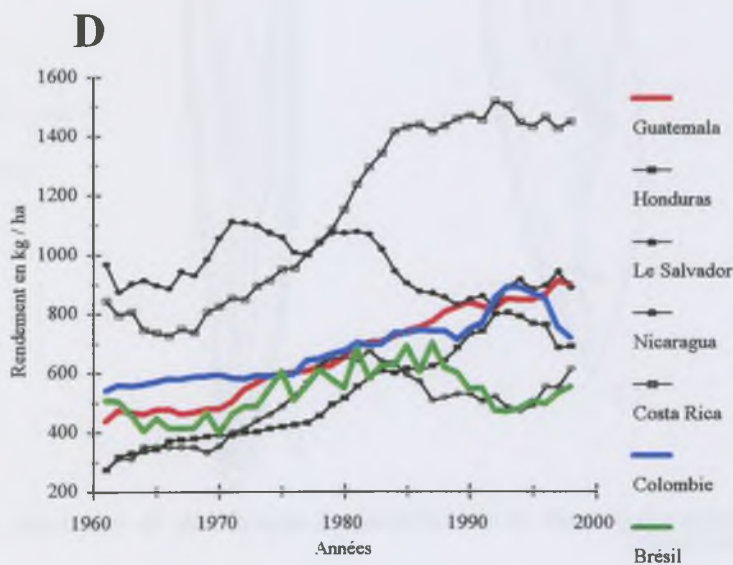
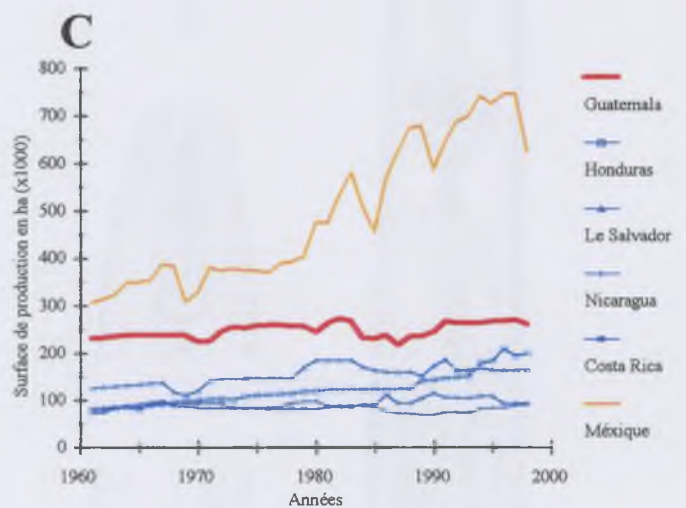
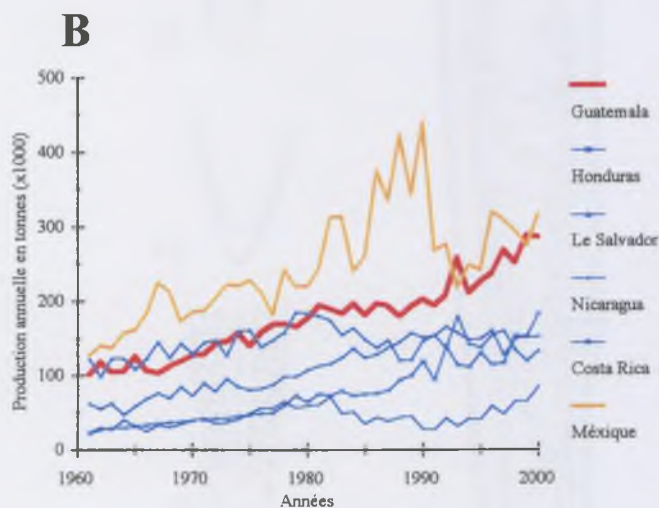
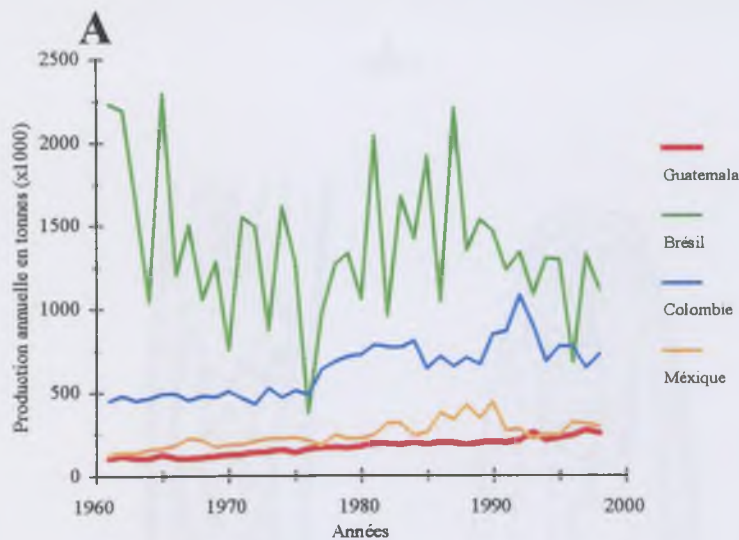
**VILLAIN, L., SARAH, J.L., DECAZY, A., MOLINA, A., SIERRA, S.** 1996. Evaluation of grafting on *Coffea canephora* var. Robusta, and chemical treatment for control of *Pratylenchus* sp. in *C. arabica* cropping systems. *Nematropica*, vol. 26, n. 3, p. 325. Proceedings of the Third International Nematology Congress, 7-12 juillet 1996, Gosier, Guadeloupe.

**ANZUETO, F., BERTRAND, B., PEÑA, M., MARBAN-MENDOZA, N., VILLAIN, L.** 1995. Desarrollo de una variedad porta-injerto resistente a los principales nematodos de América Central. In: XVII Simposio sobre la Caficultura Latinoamericana, 23-27/10/1995, San Salvador, El Salvador. 7 p.

**CILAS, C., VILLAIN, L., LICARDIE, D.** 1993. Etude de la répartition de *Pratylenchus* sp. dans une plantation de caféiers au Guatemala. In: Quinzième Colloque Scientifique International sur le Café, 1993/06/06-11, Montpellier, France. 843-847 p.

## Annexes

# Annexe 1

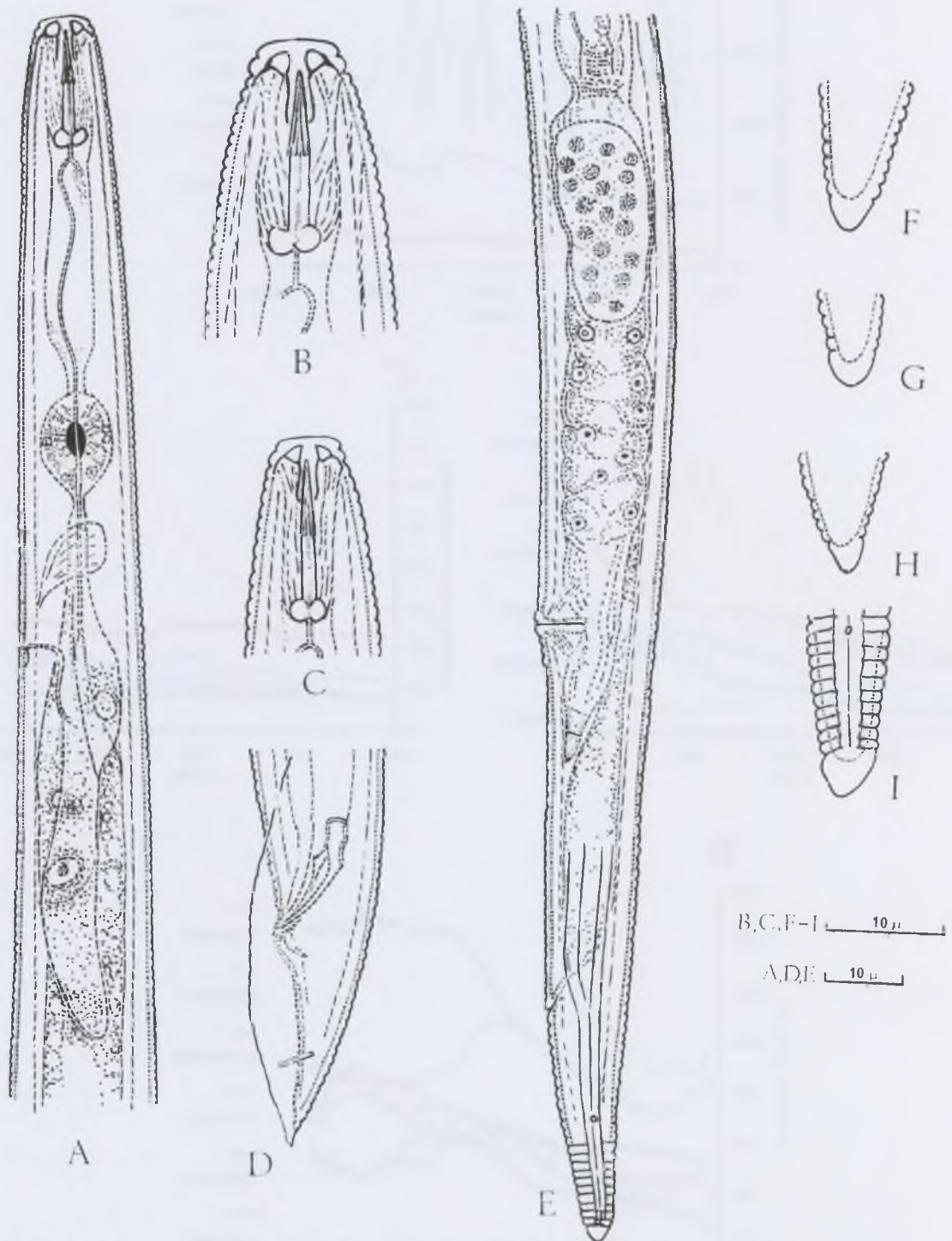


Données de production de café arabica. **A** : production annuelle des quatre premiers producteurs mondiaux ; **B** : production annuelle des pays d'Amérique Centrale et du Mexique ; **C** : surfaces de production des pays d'Amérique Centrale et du Mexique ; **D** : rendements des pays d'Amérique Centrale et du Mexique : les données de rendement sont lissées par la méthode des moyennes flottantes sur cinq ans (Source FAO, 1999).



## ANNEXE 2

-A-



*Pratylenchus loosi*. A. Anterior part of female. B. Head of female. C. Head of male. D. Tail of male. E. Posterior part of female. F, G, H, I. Tail tips of females.

*Pratylenchus loosi* Loof, 1960 (D'après Siddiqi, 1977)

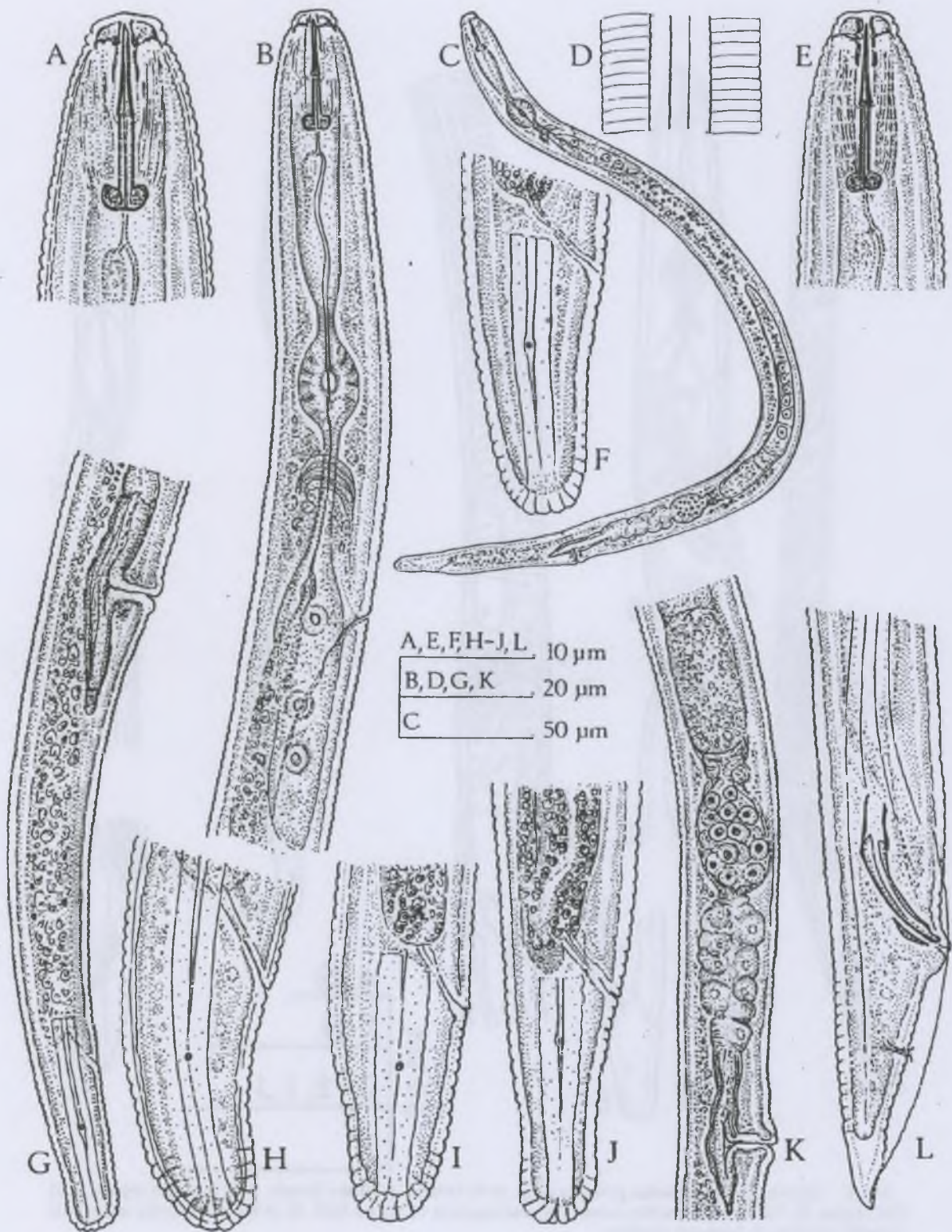


Fig. 2 (Front page) - *Pratylenchus panamaensis* sp.n.: A-D, F-K, females; E, L, males. A, E, head ends; B, oesophageal region; C, entire individual; D, lateral field at mid-body; F-J, L, tail ends; K, vulva and spermatheca region.

*Pratylenchus panamaensis* Siddiqi et al., 1991 (D'après Siddiqi et al., 1991)



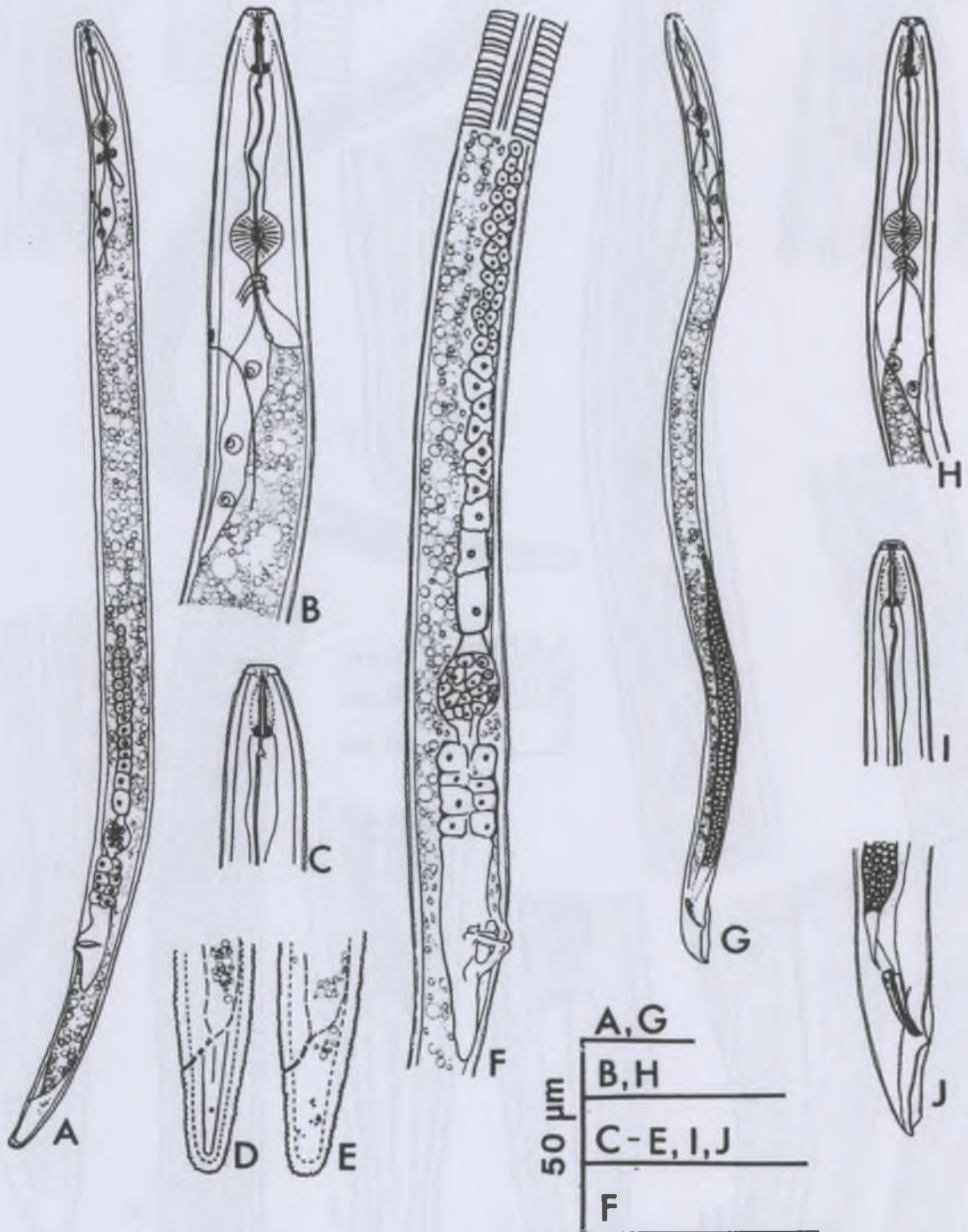


FIG. 1. Drawings of *Pratylenchus gutierrezii* n. sp. A-F) female. A) Entire female. B,C) Anterior region. D,E) Tail region. F) Vulva, reproductive structures, and segment of lateral field. G-J) Male. G) Entire male. H,I) Anterior portion. J) Posterior portion.

*Pratylenchus gutierrezii* Golden *et al.*, 1992 (D'après Golden *et al.*, 1992)



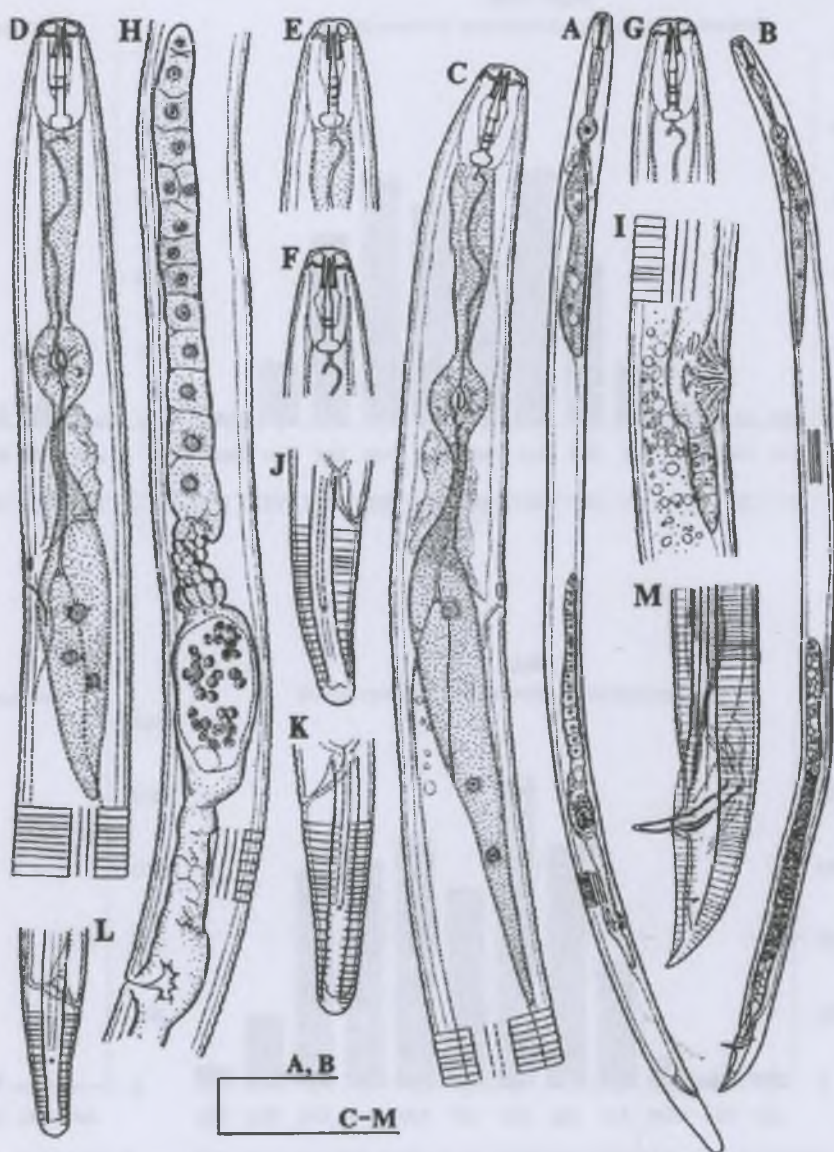


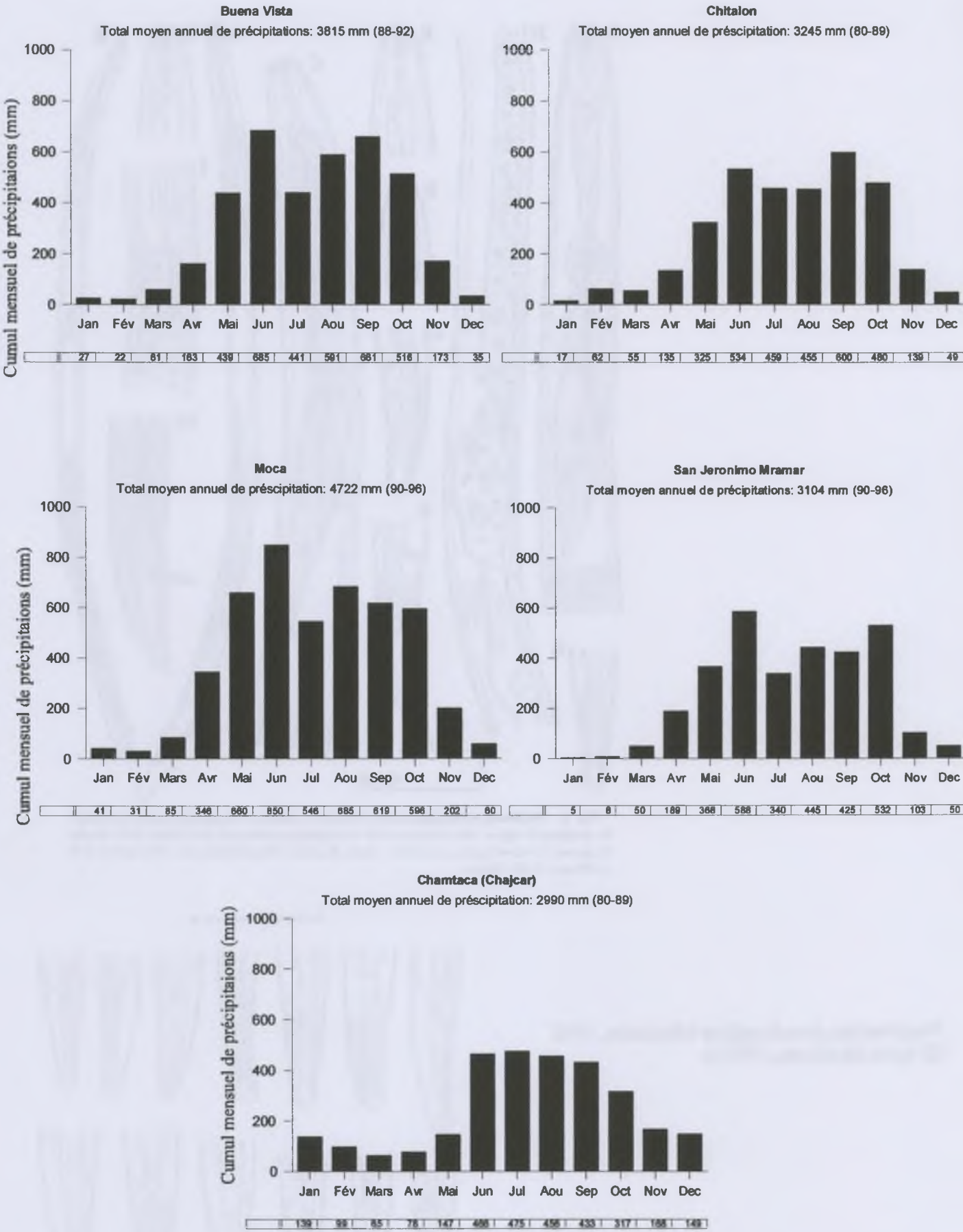
Fig. 2. *Pratylenchus pseudocoffeae* n. sp.—Female. A: entire; C: esophageal region (normal); D: esophageal region with dorso-laterally overlapping esophageal basal lobe; E-G: heads; H: gonad; I: vulval region; J-L: tails.—Male. B: entire; M: posterior end. Scale bars: A & B = 100  $\mu$ m; C-M = 30  $\mu$ m.

*Pratylenchus pseudocoffeae* n. sp.



*Pratylenchus pseudocoffeae* Mizukubo, 1992  
(D'après Mizukubo, 1992b)

# Annexe 3



Cumuls mensuels de précipitations sur les cinq sites d'étude et/ou de prélèvement d'isolats de *Pratylenchus*



# Annexe 4



Courbes de températures pour les différents sites d'étude et/ou de prélèvement d'isolats: moyennes mensuelles des températures minimales (—) et maximales (—) ; températures minimales (---) et maximales (---) absolues de chaque mois. Les données correspondent à des stations météorologiques situées à proximité et à la même altitude que les sites étudiés. Les données correspondant aux deux sites Buena Vista et Chitalon (altitude proche) sont regroupées sur le même graphique.



## Annexe 5 :

### Protocole d'élevage monoxénique de *Pratylenchus* sur rondelles de carottes (*Daucus carota*) *in vitro*

Les opérations marquées par le signe ☞ se déroulent en conditions stériles sous hotte à flux laminaire sont :

#### *Préparation des flacons pour culture in vitro:*

- Une solution d'eau gélosée (Agar 1%) est passée à l'autoclavage.

☞ 500 ppm de sulfate de dihydrostreptomycine sont ajoutés à cette solution lorsque sa température est redescendue à environ 50°C, juste avant solidification.

☞ 5 à 10 ml de cette solution sont immédiatement versés dans des flacons préalablement stérilisés pour former une couche de 0,5 à 1 cm d'agar.

#### *Préparation des rondelles de carottes*

- Des carottes de bonne taille, fraîches et sans lésions sont lavées dans une solution chlorée à 1%.

☞ Les carottes sont flambées à l'alcool à 95°

☞ Les carottes sont découpées en rondelles d'environ 1 cm d'épaisseur. Un disque est découpé au centre de chaque rondelle à l'aide d'un emporte pièce.

☞ 4 ou 5 disques sont disposés dans chaque flacon en les suspendant à environ 2 cm au dessus de la couche d'agar (photo A). Ces flacons sont conservés à l'obscurité à 28-30°C pendant une semaine afin de vérifier qu'il n'y ait aucune contamination bactérienne ou fongique avant d'inoculer les nématodes.

#### *Désinfection des nématodes:*

- les nématodes sont placés dans un microtube de centrifugation de 1 ml avec couvercle.

- centrifugation\*

☞ le surnageant est retiré et remplacé par une solution d'HgCl<sub>2</sub> à 0,01%. Les nématodes sont remis en suspension par agitation du tube.

- centrifugation\*

☞ le surnageant est retiré et remplacé par de l'eau stérile\*\* (cette opération sert de rinçage pour éliminer l'excès de HgCl<sub>2</sub>).

- centrifugation\*

☞ le surnageant est retiré et remplacé par une solution de sulfate de dihydrostreptomycine à 0,2%\*\*.

- centrifugation\*

☞ le surnageant est retiré et remplacé par de l'eau stérile\*\* (cette opération sert de rinçage pour éliminer l'excès de sulfate de dihydrostreptomycine et éventuellement les traces restantes de HgCl<sub>2</sub>).

- centrifugation\*

☞ le surnageant est retiré \*\*. De l'eau stérile est rajoutée dans la partie conique du tube Eppendorf® \*\*

☞ Les nématodes en suspension concentrée sont utilisés pour inoculer les disques de carottes dans les flacons à l'aide d'une micropipette pasteur stérile.

\* les centrifugations sont toutes réalisées à 2500 t/mn durant 2 mn (IEC, clinical centrifuge). Après chaque centrifugation les microtubes sont aspergés avec de l'alcool à 95° avant de les introduire à nouveau sous la hotte à flux laminaire.

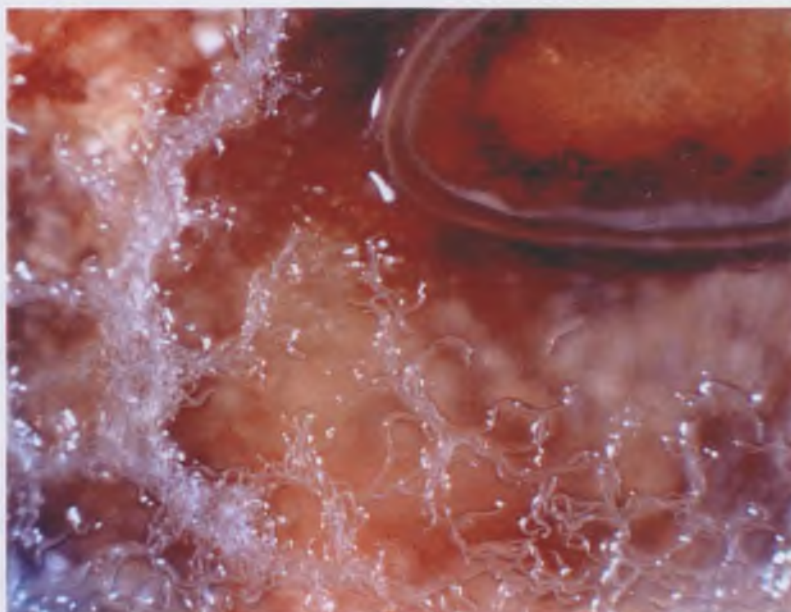
\*\* Toutes les opérations de retrait de surnageant ou de rajout de solution sont effectuées à l'aide d'une micropipette pasteur stérile. On change de pipette après chaque opération. Les nématodes sont à chaque fois remis en suspension par agitation du microtube.

Les flacons sont scellés à l'aide de Parafilm M® et maintenus ensuite dans un incubateur à l'obscurité et à une température de 26 à 27°C. Les premiers individus commencent à sortir massivement sur les parois du flacon environ 2 à 2 mois 1/2 plus tard (photo B). Les élevages sont maintenus par simple repiquage des nématodes en répétant à chaque fois la désinfection des nématodes pour prévenir les attaques bactériennes et fongiques.

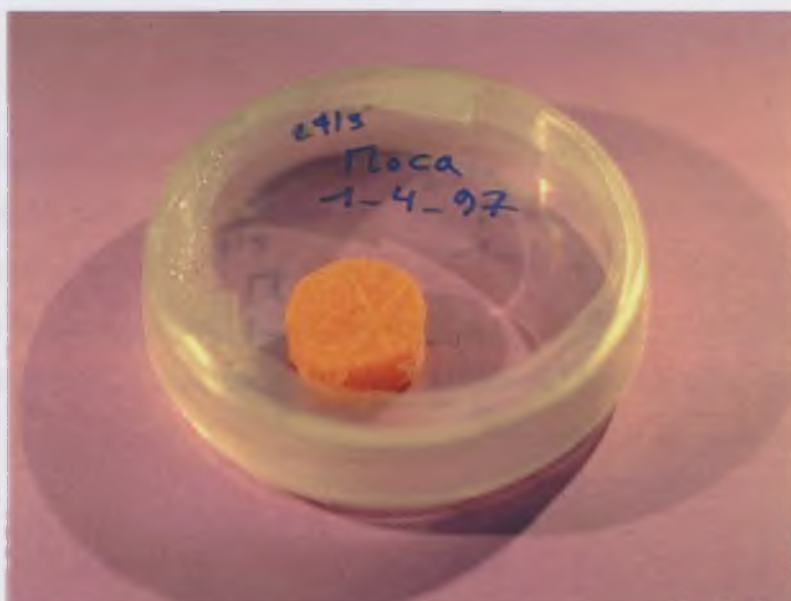
Pour les études sur le mode de reproduction, l'interfécondité des isolats et la capacité reproductive de *Pratylenchus* sur rondelles de carottes, une variante de cette méthode a été utilisée en remplaçant les flacons par des mini-boîtes de Petri de 55 mm de diamètre et 14 mm de hauteur (photo C). Grâce au petit volume de ces boîtes il n'est plus nécessaire d'appliquer une couche d'eau gélosée. La rondelle de carotte fraîchement coupée est aussitôt placée dans la mini-boîte de Petri qui est immédiatement scellée avec du Parafilm M®.



Flacon d'élevage monoxénique de *Pratylenchus* sur rondelles de carottes



Détail d'un flacon d'élevage avec migration de *Pratylenchus* depuis les rondelles de carottes sur la paroi



Reproduction d'un isolat de *Pratylenchus* en mini-boîtes de Petri sans gélose



## Annexe 6

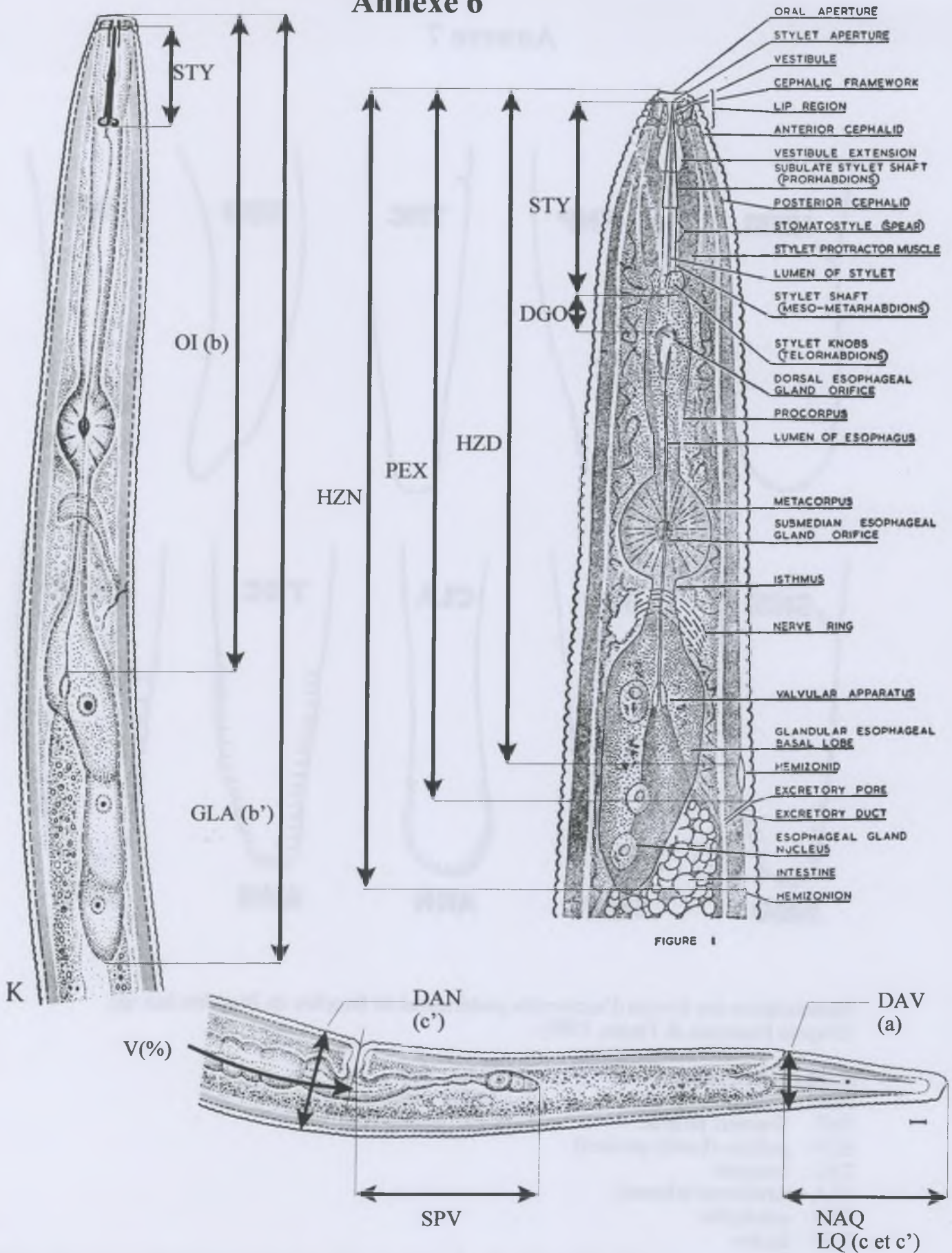
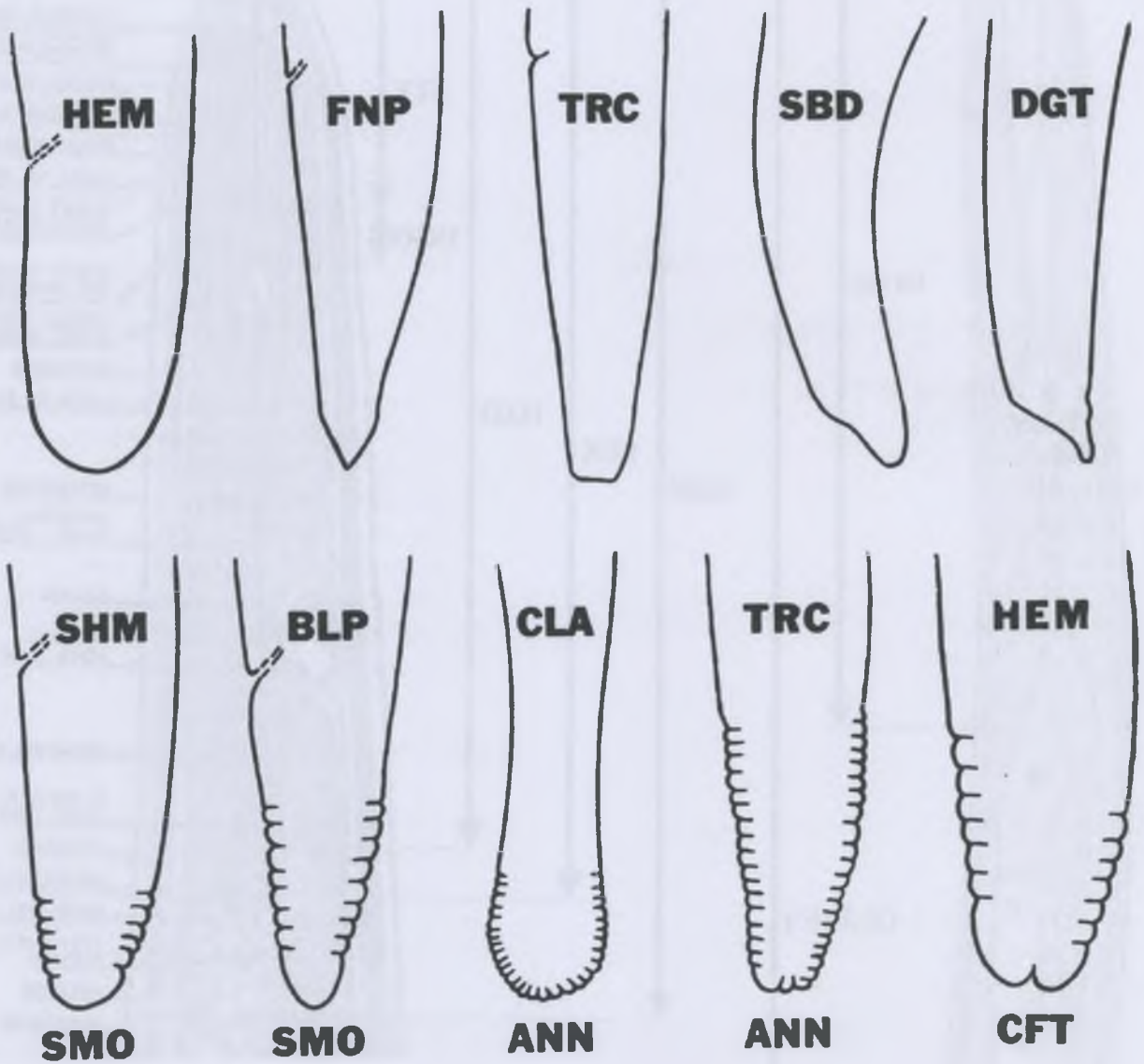


FIGURE 1

Descripteurs morphométriques des femelles de *Pratylenchus* (Loof, 1961) :

L: longueur du corps ; a, b, b', c, c', V : indices de DeMan (1880) ; STY : longueur du stylet ; DGO : distance de la base du stylet à la glande oesophagienne dorsale ; NAQ : nombre d'anneaux de la queue ; SPV : longueur du sac post-vulvaire ; LQ : longueur de la queue ; OI : distance de l'extrémité antérieure à la limite oesophage-intestin ; GLA : Distance de l'extrémité antérieure à l'extrémité postérieure des glandes oesophagiennes ; HZD : distance de l'extrémité antérieure à l'hémizonide ; HZN : distance de l'extrémité antérieure à l'hémizonion ; PEX : distance de l'extrémité antérieure au pore excréteur ; DAV : plus grand diamètre du corps (en avant de la vulve) ; DNA : diamètre du corps au niveau de l'anus.

## Annexe 7



Nomenclature des formes d'extrémités postérieures de femelles de *Pratylenchus* spp.  
(D'après Frederick & Tarjan, 1989) :

HEM : hémisphérique

SHM : subhémisphérique

FNP : finement pointue

BLP : pointue (buntly pointed)

TRC : tronquée

CLA : claviforme (clavate)

SBD : subdigitée

DGT : digitée

SMO : lisse

ANN : annelée

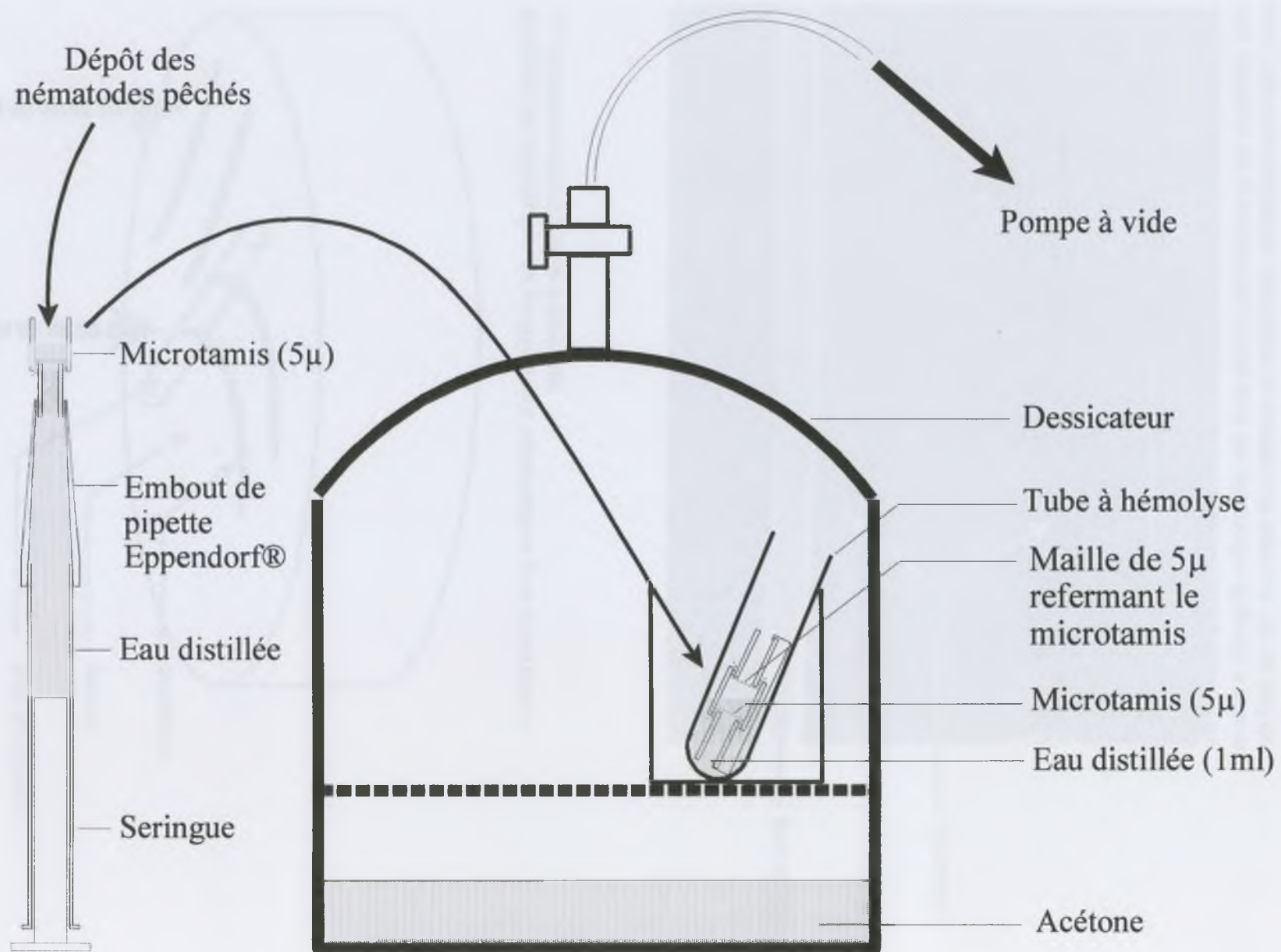
CFT : fendue (cleft)

SMO : lisse

ANN : annelée

CFT : fendue (cleft)

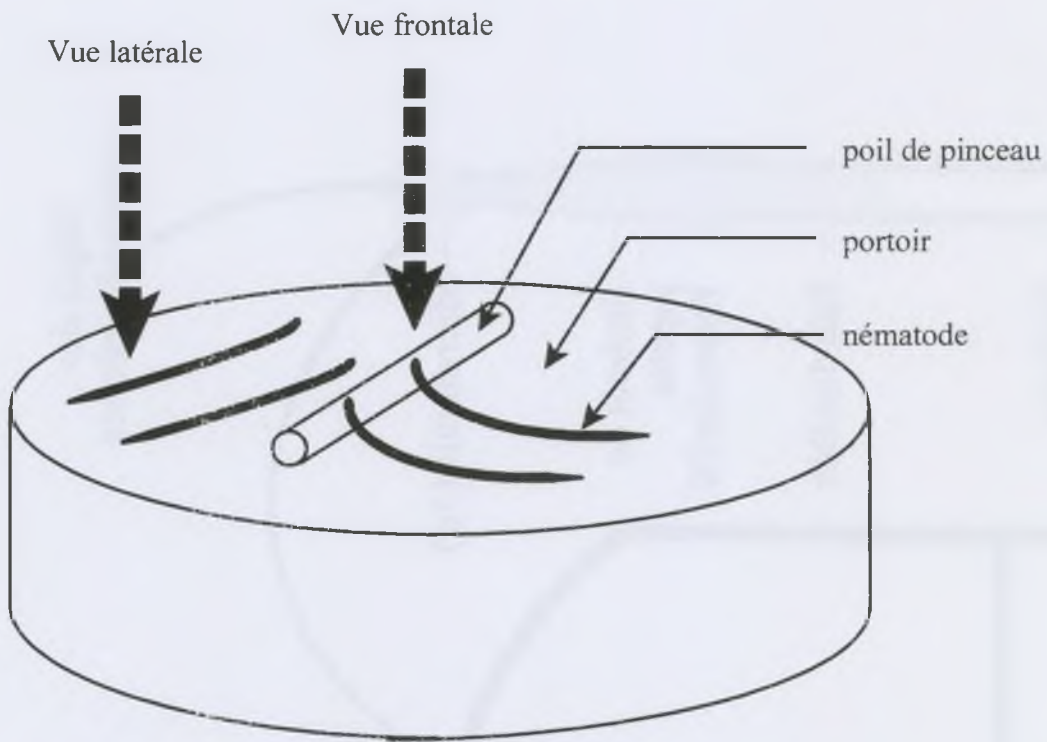




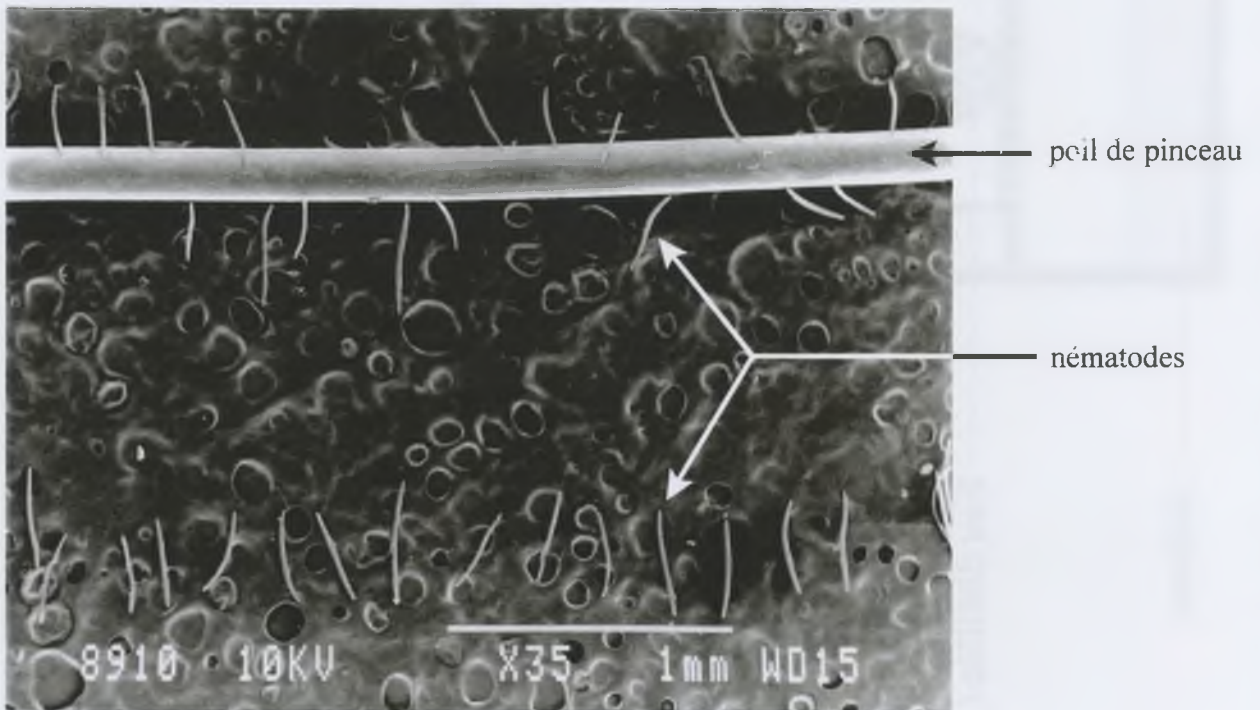
Méthode de déshydratation des nématodes avant préparation pour observation au microscope électronique à balayage (D'après Baujard & Pariselle, 1987).



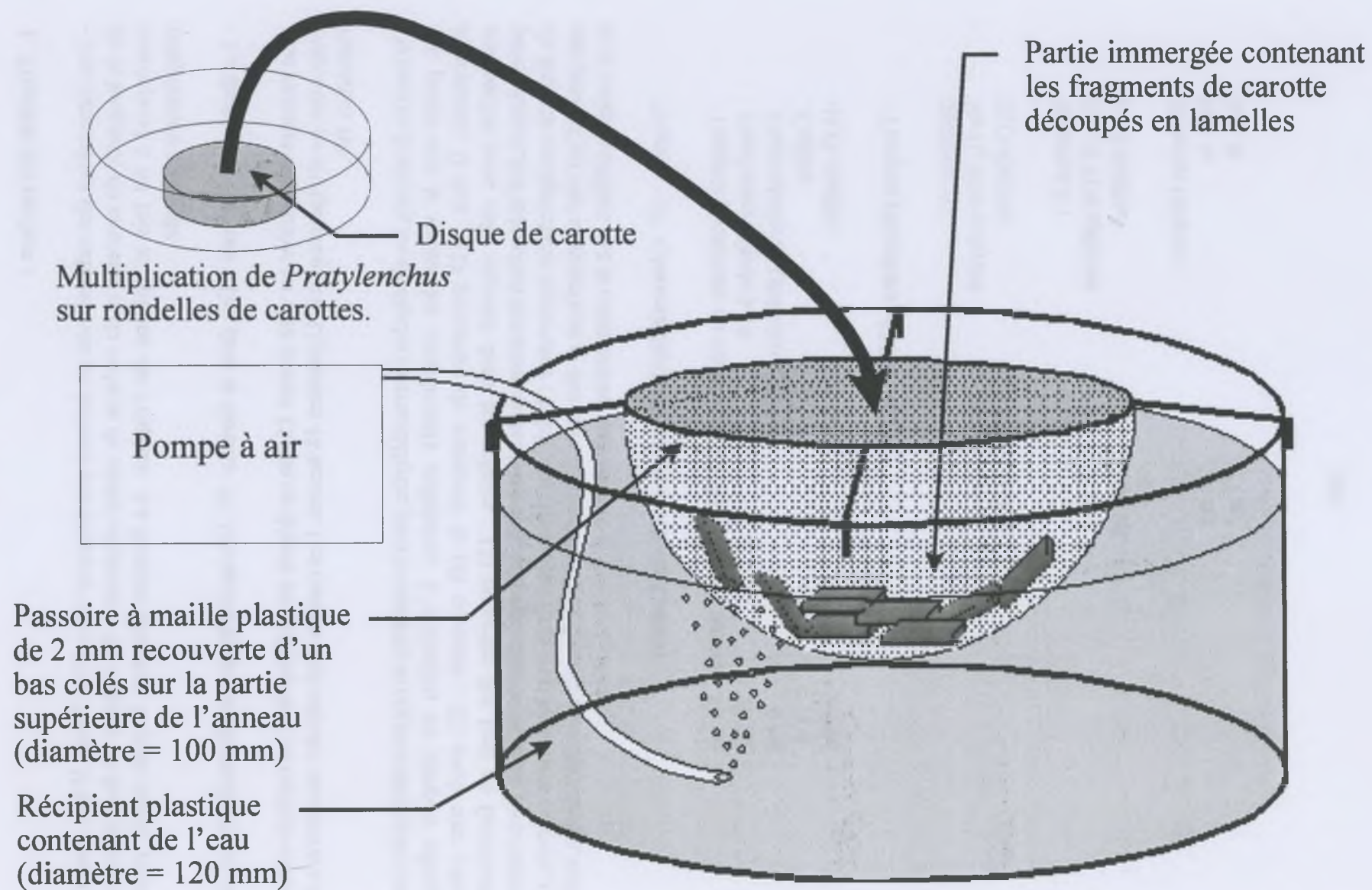
## Annexe 9



Montage des nématodes sur portoir avant métallisation pour observation au microscope électronique à balayage



Vue zénithale de la surface du portoir avec les nématodes disposés à plat ou avec l'une des extrémités, antérieure ou postérieure reposant sur un poil de pinceau



Représentation du système d'incubation des disques de carottes avec bullage pour extraction des *Pratylenchus* spp.



# Annexe 11

## Protocole de réalisation de coupes histologiques de racines de plantules de *Coffea* spp.

### 1. Fixation des racines :

- Les dimensions des échantillons ne doivent pas dépasser 10 x 10 x 2 mm. Il faut tenir compte de la longueur du couteau et du volume de résine nécessaire. Le volume de fixateur nécessaire correspond à 60 fois le volume de l'explant. La fixation doit être la plus rapide possible, à température ambiante.

- La fixation des racines a lieu dans le fixateur 5F. Glutaraldéhyde-Paraformaldéhyde-Caféine

- Le passage des racines au vide durant 15 mn au départ est préférable. Les racines sont ensuite disposées au réfrigérateur à 4°C pendant 48 heures. Les racines sont ensuite conservées dans de l'alcool à 70°.

De tous les fixateurs, les aldéhydes (formaldéhyde, paraformaldéhyde et glutaraldéhyde) sont ceux qui préservent le mieux les constituants cellulaires. L'utilisation du tampon adéquat est importante. Il doit : (1) permettre de maintenir le pH constant ; (2) avoir une osmolarité compatible avec celle régnant dans les cellules ; (3) posséder des ions ne favorisant ni la précipitation, ni l'extraction des composants intra-cellulaires pendant la fixation. La concentration du fixateur est également importante : faible, les tissus sont fixés trop lentement ; élevée, on note une perte d'activité enzymatique et des dommages cellulaires. Pour toutes ces raisons, le fixateur et le tampon utilisés ont la composition suivante:

Fixateur : 5F. Glutaraldéhyde-Paraformaldéhyde-Caféine :

. Tampon phosphate ou cacodylate de Na 0,2M pH neutre	50 ml
. Paraformaldéhyde à 10	20 ml
. Glutaraldéhyde (solution à 25 %)	4 ml
. Caféine	1 g
-H <sub>2</sub> O distillée	26 ml

- Tampon phosphate pH 7,2 0,2M

Solution A :

Na H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> anhydre	2,4 g
H <sub>2</sub> O distillée	100 ml

Solution B :

Na <sub>2</sub> H PO <sub>4</sub> anhydre	2,84 g
H <sub>2</sub> O distillée	100 ml

Solution tampon :

Sol. A	28 ml
Sol. B	72 ml



On ajoute 2 g de paraformaldéhyde à 20 ml d'eau bi-distillée. Après agitation, la suspension est chauffée à 60-65°C sous hotte jusqu'à ce que la poudre se dissolve. On ajoute quelques gouttes de soude N jusqu'à obtenir la limpidité de la solution préparée. On laisse ensuite refroidir.

## 2. Déshydratation des racines :

Les échantillons sont soumis au protocole suivant :

- |                 |       |
|-----------------|-------|
| 1. Ethanol 70°  | 30 mn |
| 2. Ethanol 70°  | 1 h   |
| 3. Ethanol 95°  | 15 mn |
| 4. Ethanol 95°  | 30 mn |
| 5. Ethanol 100° | 15 mn |

A ce stade, il est possible d'effectuer une déshydratation sous-vide d'une dizaine de minutes (plus rapide en histochimie).

- |                 |       |
|-----------------|-------|
| 6. Ethanol 100° | 30 mn |
|-----------------|-------|

## 3. Imprégnation des racines :

Le milieu d'imprégnation est composé de :

la résine de base : 50 ml

- Glycolméthacrylate (GMA) ester soluble dans l'eau de l'acide méthacrylique
- Hydroquinone empêchant l'autopolymérisation
- Polyéthylène Glycol 400 (PEG 400) améliorant la qualité finale des coupes.

l'activateur : 0,5 g

- Peroxyde de benzole réactivant le GMA
- Un excipient qui stabilise le peroxyde de benzoyle

Le protocole suivant d'imprégnation est réalisé :

- |                              |                 |
|------------------------------|-----------------|
| Toluène + Ethanol 100° (1/1) | 30 mn           |
| Toluène pur                  | 1 h             |
| Toluène pur                  | 1 h             |
| Toluène pur                  | 1 h             |
| Toluène + paraffine (1/1)    | 30 mn à 58-60°C |
| Paraffine                    | 1 h à 58-60°C   |
| Paraffine                    | 1 h à 58-60     |
| Paraffine                    | 12 h à 58-60    |

Seules les racines bien imprégnées, translucides et tombées au fond du tube, peuvent être incluses.

#### **4. Inclusion des racines :**

Le milieu d'inclusion comprend :

- le milieu d'imprégnation : 15 ml
- le durcisseur : 1 ml
- Dérivé de l'acide barbiturique qui initie la réaction de polymérisation quand il est ajouté à la solution d'imprégnation.
- Sulfoxyde diméthyle (DMSO) qui est un solvant.
- L'histomold est rempli avec le milieu d'inclusion au dessus de la dépression inférieure.
- Les explants de racines sont ensuite immergés en surveillant leur bonne orientation du fait de mouvements de convection engendrés par la réaction exothermique de polymérisation de la résine.
- On laisse durcir la résine à température ambiante durant 30 mn.
- La polymérisation s'effectue totalement en 40 à 120 mn à température ambiante. On peut alors démouler les inclusions

#### **6. Fabrication des plâtres**

Le milieu de montage est composé de

- une poudre (Polyméthylméthacrylate) 3 g
- un durcisseur liquide (Méthylméthacrylate et diméthylparatoluidine) 1,5 ml

La prise de ciment est très rapide et permet de fixer l'adaptateur sur le bloc de résine polymérisée contenant l'explant après la 3ème phase d'inclusion, en exerçant une pression sur le bloc. On laisse sécher 15 à 20 mn.

#### **6. Réalisation des coupes au microtome :**

- Le bloc étant fixé sur l'appareil, les coupes sont effectuées à 7 microns et étalées sous forme de rubans, leur face brillante tournée contre une lame préalablement dégraissée à l'éthanol.
- A l'aide d'une pipette, on ajoute de l'eau gélosée à 0,05 % (si les colorations sont longues, augmenter la concentration à 0,1 %) de façon à faire flotter les rubans, sur la lame (pour préserver l'eau gélosée de toute infection bactérienne, on peut ajouter 3 à 5 gouttes de bichromate de K à 3 % pour 20 ml de solution).
- La lame est disposée sur une platine thermostatée à 45 - 50°C, afin que les rubans de paraffine s'étalent bien. Les lames sont égouttées sur papier absorbant, avant la formation de bulles.
- Un séchage des lames est effectué dans une étuve, à une température de 37°C. Avant de passer au déparaffinage, les lames sont disposées sur une platine portée au préalable à la température de fusion de la paraffine. Cela permet de parfaire le collage des coupes, qui s'il est insuffisant, se manifeste par des plages miroitantes observées à la lumière rasante.

## 7. Coloration P.A.S. (Schiff) Naphtol Blue Black :

Les lames disposées dans un panier vont subir une succession de bains pour la coloration :

- Bain dans le **DNPH** : une demi heure à l'obscurité (S'assurer que le DNPH soit à température ambiante).
- Bien rincer à l'eau dans l'évier (remplir le bac avec 8 à 10 cm d'eau). Ensuite rincer dans 2 à 3 bains d'eau distillée (le 1<sup>er</sup> dans un grand volume d'eau dans la bassine, ensuite dans un bac en verre).
- Bain dans l'**acide périodique 1%** : 5 minutes
- Deux rinçages à l'eau distillée dans des bacs en verre.
- Bain dans le **Schiff** : 10 minutes à l'obscurité.
- Plusieurs rinçages à l'eau distillée jusqu'à ce que l'eau soit claire (on peut attendre avant de faire la coloration au Naphtol).
- Bain dans le **Naphtol Blue Black** : 7 minutes au bain-marie (48 à 50°C).
- Un rinçage à l'eau distillée.
- Trois à quatre rinçages à l'**acide acétique 7%**. Vérifier que ce soit bien régressé sinon refaire un rinçage à l'acide acétique.
- Bien sécher les lames (15 minutes sur platine) avant de les monter.



## Annexe 12

### Technique de coloration des nématodes à la Fuchsine acide dans les tissus végétaux

- ⇒ La solution colorante est préparée de la manière suivante:
  - ✓ Une solution mère de fuchsine acide est préparée en dissolvant 1 g de fuchsine acide dans 100 ml d'eau distillée.
  - ✓ Du lactoglycérol est préparé avec les proportions suivantes:
    - acide lactique: 33 g
    - glycérine: 33 g
    - eau distillée: 33 ml
  - ✓ Pour 100 ml de lactoglycérol, on ajoute 5 ml d'une solution-mère de fuchsine acide
- ⇒ On porte à ébullition 25 ml de la solution colorante de fuscine acide. Les racines sont alors plongées durant 30 secondes dans la solution maintenue à ébullition.
- ⇒ Les racines sont retirées immédiatement de la solution colorante. La solution colorante est récupérée pour être réutilisée plusieurs fois (cinq fois maximum).
- ⇒ Les racines sont ensuite lavées abondamment à l'eau froide sous robinet pour éliminer l'excédent de colorant mais avec précaution pour garder intact le système racinaire.
- ⇒ Afin de clarifier les racines celles ci sont placées dans une solution équivalente d'eau et de glycérine acidifiée avec quelques gouttes d'acide lactique. Les racines se décolorent progressivement (la solution ayant par conséquent tendance à se colorer, et il faut donc la renouveler régulièrement durant les trois premières semaines) tandis que les nématodes restent colorés. Les racines peuvent être conservées plusieurs mois dans la solution décolorante.

## ABSTRACT

The first purpose of this work was to characterize four isolates of *Pratylenchus* that were morphologically similar to *P. coffeae*, taken from coffee trees at four different geographical sites in Guatemala. The obligatory amphimictic reproduction method of these isolates was confirmed. Observation of reproductive isolation between these isolates suggested they belonged to different species. The characterization tools used revealed two levels of diversity. Detailed observation under a scanning electron microscope enabled separation of the four isolates into two groups. Among these isolates, three were studied more thoroughly. The morphological dichotomy tallied with the differences seen in the reproductive fitness of these isolates on *in vitro* carrot disks depending on the temperature with a thermal optimum of between 27°C and 30°C or between 24°C and 27°C. A multivariate analysis of various morphometric descriptors enabled differentiation of the three isolates studied. Biologically, on *C. arabica*, each of the three isolates revealed a different parasitic fitness directly linked to its infestation capacity and its reproductive fitness on this host. For each of the isolates, the amount of damage caused to the host was directly linked to its parasitic fitness. The ability to cause damage seemed to be identical for the three isolates. This study suggests the polyspecific *Pratylenchus* spp. parasite complex on *Coffea* spp. in Guatemala presents a substantial diversity which needs to be studied on a Meso-American scale in the different coffee producing regions.

At the same time, studies conducted in plantations have revealed seasonal fluctuations in wild *Pratylenchus* populations in relation with the phenological rhythms of *C. arabica* and climatic factors depending on altitude. The rapid and severe outbreaks seen in these populations indicate the considerable ability of the parasite to colonize coffee orchards under the study conditions. The degree of damage observed in the field on *C. arabica* is in line with the strong parasitic fitness seen in pots for certain isolates.

This study reveals the existence of partial resistance factors in *C. canephora* on a pre- and post-infectious level, thereby confirming the merits of this germplasm for selecting rootstocks with resistance to *Pratylenchus* spp. The efficacy of grafting on *C. canephora* in the field and the low impact of chemicals in controlling *Pratylenchus* populations are also demonstrated.

**Keywords:** *Pratylenchus* sp., *Coffea* sp., morphology, reproductive fitness, parasitic fitness, temperature, population fluctuations, pest resistance.

## RÉSUMÉ

Les présents travaux ont pour premier objectif de caractériser quatre isolats de *Pratylenchus* morphologiquement proches de *P. coffeae*, prélevés sur caféiers et sur quatre sites géographiques différents du Guatemala. Le mode de reproduction amphimictique obligatoire de ces isolats est confirmé. L'observation d'isolements sur le plan reproductif suggère l'appartenance de ces isolats à plusieurs espèces. Les outils de caractérisation utilisés montrent deux niveaux de diversité. L'observation détaillée au microscope électronique à balayage a permis de séparer les isolats en deux groupes. Pour trois de ces isolats, qui ont peu été étudiés par la suite, cette dichotomie morphologique coïncide avec les différences de capacité reproductive sur rondelles de carottes *in vitro* en fonction de la température avec un optimum thermique situé entre 27 et 30°C ou entre 24 et 27°C. L'analyse multivariée d'un ensemble de descripteurs morphométriques a permis de différencier les trois isolats étudiés. Sur le plan biologique, chacun de ces trois isolats se différencie également l'un de l'autre par sa capacité parasitaire sur *C. arabica* directement liée à sa capacité d'infestation et sa capacité reproductive sur cet hôte. La quantité de dommages observée sur la plante est pour chacun des isolats directement liée à sa capacité parasitaire. L'aptitude à produire des dégâts sur le système racinaire apparaît identique pour les trois isolats. Cette étude suggère que le complexe parasitaire polyspécifique de *Pratylenchus* spp. sur *Coffea* spp. au Guatemala présente une importante diversité qui doit être étudiée au niveau méso-américain dans les différentes régions productrices de café.

Parallèlement des études menées en plantations ont révélé des fluctuations saisonnières de populations de *Pratylenchus* en fonction des rythmes phénologiques de *C. arabica* et des facteurs climatiques dépendants de l'altitude. Les pullulations rapides et de forte amplitude observées dans ces populations naturelles indiquent une forte aptitude du parasite à coloniser les caféières dans les conditions de l'étude. L'importance des dommages observés au champ sur *C. arabica* est en accord avec la forte capacité parasitaire observée en pots pour certains isolats.

L'étude montre l'existence de facteurs de résistance partielle chez *C. canephora* au niveau pré et post-infectieux confirmant l'intérêt de ce matériel génétique pour la sélection de porte-greffes résistants aux *Pratylenchus* spp. L'efficacité au champ du greffage sur *C. canephora* et le faible impact de la lutte chimique dans la gestion des populations de *Pratylenchus* sont également démontrés.

**Mots clés :** *Pratylenchus* sp., *Coffea* sp., morphologie animale, capacité reproductive, capacité parasitaire, température, fluctuations de populations, résistance aux parasites.